

POLIPÉPTIDOS DE UNIÓN AL RECEPTOR DE TRANSFERRINA Y USOS DE ESTOS.

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/615,914, presentada el 10 de enero de 2018, la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/631,281, presentada el 15 de febrero de 2018, la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/682,639, presentada el 8 de junio de 2018, la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/721,275, presentada el 22 de agosto de 2018, cuyas descripciones se incorporan a la presente mediante referencia en su totalidad a todos los efectos.

CAMPO

[0002] La presente descripción se relaciona con dímeros de polipéptidos Fc modificados que se unen al receptor de transferrina (TfR, por sus siglas en inglés), que pueden inducir al menos una actividad de función efectora (por ejemplo, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés)), pero que no producen una disminución considerable de reticulocitos.

ANTECEDENTES

[0003] Se ha propuesto el TfR como diana para la transcitosis mediada por receptor de sustancias terapéuticas en la barrera hematoencefálica (BHE). Si bien TfR se expresa en las células endoteliales que forman la BHE, TfR se expresa también en otros tipos de células, inclusive los reticulocitos. Trabajos anteriores han demostrado que los anticuerpos anti-TfR pueden disminuir los reticulocitos en la circulación.

[0004] Debido a que la disminución de reticulocitos se encuentra mediada por la actividad de la función efectora, esta toxicidad puede superarse realizando modificaciones que reduzcan o eliminen la función efectora. Sin embargo, este enfoque impide el uso de sustancias terapéuticas en las que la función efectora es deseable o necesaria.

[0005] Por tanto, sería ventajoso un medio para administrar al cerebro sustancias terapéuticas positivas para la función efectora que no generen una disminución de reticulocitos.

COMPENDIO

- [0006] Hemos desarrollado polipéptidos Fc que se han modificado para unirse a TfR. Estos polipéptidos Fc pueden transportarse en forma activa al cerebro mediante transcitosis mediada por un receptor, a través de la unión a TfR en la BHE. Debido a que los polipéptidos Fc son capaces de inducir la actividad de la función efectora, inclusive ADCC, mediante la unión a receptores Fc γ (Fc γ R) en células inmunitarias, y debido a que TfR se expresa en reticulocitos, la unión simultánea por parte de estos polipéptidos a los reticulocitos y Fc γ R puede derivar en la disminución de reticulocitos. Si bien la función efectora puede disminuir o eliminarse por la introducción de mutaciones en el polipéptido Fc, esto no es deseable en algunas aplicaciones terapéuticas.
- [0007] La presente descripción se basa en el desarrollo de dímeros de polipéptidos Fc modificados que se unen al TfR, en la BHE, y conservan la actividad de la función efectora pero que no generan una toxicidad considerable dependiente de TfR, inclusive la disminución de reticulocitos. Tales dímeros se pueden modificar tal como se describe en la presente.
- [0008] En un aspecto, la descripción presenta un dímero de polipéptidos Fc modificado o un fragmento dimérico de este, que: (a) comprende un sitio de unión al TfR que se une específicamente a TfR; (b) puede unirse a un receptor de Fc γ (Fc γ R); y (c) no disminuye considerablemente los reticulocitos *in vivo*.
- [0009] En un aspecto, la descripción presenta un dímero de polipéptidos Fc modificado o un fragmento dimérico de este, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR, que comprende (i) un sitio de unión a TfR y (ii) una o más modificaciones de aminoácidos que reducen la unión a Fc γ R, por ejemplo, cuando se une a TfR (por ejemplo, pero que tiene una reducción limitada de unión al Fc γ R o no la tiene cuando no se une al TfR); y (b) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que disminuya la unión al Fc γ R.
- [00010] En algunas modalidades de este aspecto, el sitio de unión al TfR comprende un dominio CH3 modificado. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado deriva de un dominio CH3 de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana. En modalidades particulares, el dominio CH3 modificado comprende cinco, seis,

siete, ocho o nueve sustituciones en un conjunto de posiciones de aminoácidos que comprende 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU. En modalidades particulares, el dominio CH3 modificado comprende adicionalmente una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 380, 391, 392 y 415.

[00011] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además una, dos o tres sustituciones en las posiciones que comprenden 414, 424 y 426.

[00012] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al dominio apical del TfR. En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al TfR sin inhibir la unión de la transferrina a TfR. En modalidades particulares, el dímero de polipéptidos Fc modificado se une a un epítipo que comprende el aminoácido 208 del TfR.

[00013] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende Trp en la posición 388. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende un aminoácido aromático en la posición 421. En modalidades particulares, el aminoácido aromático en la posición 421 es Trp o Phe.

[00014] En algunas modalidades de este aspecto, el dominio CH3 modificado comprende al menos una posición que se selecciona de las siguientes: la posición 384 es Leu, Tyr, Met o Val; la posición 386 es Leu, Thr, His o Pro; la posición 387 es Val, Pro o un aminoácido ácido; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Val, Ser o Ala; la posición 413 es Glu, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro; la posición 416 es Thr o un aminoácido ácido; y la posición 421 es Trp, Tyr, His o Phe.

[00015] En algunas modalidades de este aspecto, el dominio CH3 modificado comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho posiciones que se seleccionan de las siguientes: la posición 384 es Leu, Tyr, Met o Val; la posición 386 es Leu, Thr, His o Pro; la posición 387 es Val, Pro o un aminoácido ácido; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Val, Ser o Ala; la posición 413 es Glu, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro; la posición 416 es Thr o un aminoácido ácido; y la posición 421 es Trp, Tyr, His o Phe.

[00016] En algunas modalidades de este aspecto, el dominio CH3 modificado comprende Leu o Met en la posición 384; Leu, His o Pro en la posición 386; Val en la posición 387; Trp en la posición 388; Val o Ala en la posición 389; Pro en

la posición 413; Thr en la posición 416; y/o Trp en la posición 421.

[00017] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además Gln, Phe o His en la posición 392. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende adicionalmente Trp en la posición 380 y/o Gln en la posición 392.

[00018] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende una, dos o tres posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 414 es Lys, Arg, Gly o Pro; la posición 424 es Ser, Thr, Glu o Lys; y la posición 426 es Ser, Trp o Gly.

[00019] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende Tyr en la posición 384, Thr en la posición 386, Glu o Val y la posición 387, Trp en la posición 388, Ser en la posición 389, Ser o Thr en la posición 413, Glu en la posición 416, y/o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende además Glu en la posición 415. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende adicionalmente Trp en la posición 380 y/o Glu en la posición 415. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende Asn en la posición 390.

[00020] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende una o más de las siguientes sustituciones: Trp en la posición 380; Thr en la posición 386; Trp en la posición 388; Val en la posición 389; Ser o Thr en la posición 413; Glu en la posición 415; y/o Phe en la posición 421.

[00021] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 4-29 y 64-127. En modalidades particulares, el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270.

[00022] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad respecto a los aminoácidos 111-217 de la SEQ ID NO:1 siempre que

el porcentaje de identidad no incluya el conjunto de posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU.

[00023] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 154-160 y/o 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29 y 125-127.

[00024] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende al menos una posición que se selecciona de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe. En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe.

[00025] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende 11 posiciones como a continuación: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe.

[00026] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 4-29 y 64-127. En modalidades particulares, el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270.

[00027] En algunas modalidades, los residuos de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 de las posiciones correspondientes a las posiciones 380, 384, 386,

384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 y 426, de acuerdo con el esquema de numeración EU, no se eliminan o sustituyen.

[00028] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS:38-61 y 131-173.

[00029] En algunas modalidades de este aspecto, el dominio CH3 modificado comprende además (i) un Trp en la posición 366 o (ii) una Ser en la posición 366, una Ala en la posición 368 y una Val en la posición 407, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00030] En algunas modalidades de este aspecto, el dominio CH3 no modificado correspondiente es un dominio CH3 de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.

[00031] En algunas modalidades de este aspecto, las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión al FcγR, por ejemplo, cuando se une al TfR, comprenden Ala en la posición 234 y en la posición 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión a FcγR, por ejemplo cuando se une al TfR, comprenden además Gly en la posición 329, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00032] En algunas modalidades de este aspecto, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprende modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero). En algunas modalidades, las modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero) comprenden Tyr en la posición 252, Thr en la posición 254 y Glu en la posición 256, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, las modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero) comprenden (i) una Leu en la posición 428 y una Ser en la posición 434, o (ii) una Ser o Ala en la posición 434, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00033] En algunas modalidades de este aspecto, el dímero de polipéptidos Fc modificado se fusiona además a un Fab. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc se fusiona además a un Fab.

[00034] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende una

mutación de botón T366W y el segundo polipéptido Fc comprende mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración de UE. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00035] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:178, 190, 202, 214, 226, 238, 238, 252, 286, 298 y 310. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00036] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 y 311. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00037] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el

esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:181, 193, 205, 217, 229, 241, 277, 289, 301 y 313. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00038] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 y 386. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00039] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:182, 194, 206, 218, 230, 242, 278, 290, 302 y 314. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00040] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se

une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:324, 331, 338, 345, 352, 359, 366, 373, 380 y 387. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:397.

[00041] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 y 310. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:400.

[00042] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 y 310. En algunas modalidades, el segundo

polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:407.

[00043] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 y 311. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:400.

[00044] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 y 311. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:407.

[00045] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no

contiene un sitio de unión al Tfr ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:181, 193, 205, 217, 229, 241, 277, 289, 301 y 313. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:400.

[00046] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al Tfr que comprende un sitio de unión al Tfr, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al Tfr ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 y 386. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:407.

[00047] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al Tfr que comprende un sitio de unión al Tfr, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al Tfr ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:182, 194, 206, 218, 230, 242, 278, 290, 302 y 314. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:400.

[00048] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se

une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:324, 331, 338, 345, 352, 359, 366, 373, 380 y 387. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:407.

[00049] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 y 316. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00050] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 y 317. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00051] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:187, 199, 211, 223, 235, 247, 283, 295, 307 y 319. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00052] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 y 389. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00053] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer

polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:188, 200, 212, 224, 236, 248, 284, 296, 308 y 320. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00054] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:327, 334, 341, 348, 355, 362, 369, 376, 383 y 390. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:391.

[00055] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 y 316. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:394.

[00056] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación

de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 y 316. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:404.

[00057] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A, y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 y 317. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:394.

[00058] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 y 317. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:404.

[00059] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las

modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:187, 199, 211, 223, 235, 247, 283, 295, 307 y 319. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:394.

[00060] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 y 389. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:404.

[00061] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer

polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:188, 200, 212, 224, 236, 248, 284, 296, 308 y 320. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:394.

[00062] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:327, 334, 341, 348, 355, 362, 369, 376, 383 y 390. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia SEQ ID NO:404.

[00063] En cualquier aspecto del dímero de polipéptidos Fc modificado descrito en la presente, el dímero de polipéptidos Fc modificado no disminuye considerablemente los reticulocitos (por ejemplo, los reticulocitos en circulación). En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos disminuida después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración de un dímero de polipéptidos Fc modificado es mayor que una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es al menos 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % mayor que una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración de un testigo.

[00064] En cualquier aspecto del dímero de polipéptidos Fc modificado descrito en la presente, el dímero de polipéptidos Fc modificado no disminuye considerablemente los reticulocitos en la médula ósea. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es mayor que una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración de un testigo. En algunas modalidades, una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es al menos 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % mayor que una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración de un testigo.

[00065] En algunas modalidades, el testigo es un dímero Fc de unión al TfR correspondiente (es decir, que tiene las mismas mutaciones que producen la unión a TfR que el dímero de polipéptidos Fc modificado descrito anteriormente) con la totalidad de la función efectora y/o no contiene mutaciones que reducen la unión al Fc γ R.

[00066] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por tener una proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc que se puede transportar en forma activa en la BHE, donde la proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc comprende: (a) una región variable de anticuerpo que puede unirse a un antígeno, o un fragmento de unión al antígeno de este; y (b) un dímero de polipéptidos Fc modificado que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente al TfR que comprende un sitio de unión al TfR y una o más modificaciones de aminoácidos que reducen la unión al Fc γ R, por ejemplo, cuando se une al TfR (por ejemplo, pero tiene una reducción limitada de unión al

Fc γ R o no la tiene cuando se une al Tfr), y (ii) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión al Tfr ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[00067] En algunas modalidades de este aspecto, las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión al Fc γ R, por ejemplo, cuando se une al Tfr, comprenden Ala en la posición 234 y en la posición 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En modalidades particulares, las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión a Fc γ R, por ejemplo cuando se une al Tfr, comprenden además Gly en la posición 329, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00068] En algunas modalidades de este aspecto, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprende modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero). En algunas modalidades, las modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero) comprenden Tyr en la posición 252, Thr en la posición 254 y Glu en la posición 256, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, las modificaciones de aminoácidos que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, semivida en suero) comprenden (i) una Leu en la posición 428 y una Ser en la posición 434, o (ii) una Ser o Ala en la posición 434, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[00069] En algunas modalidades de este aspecto, la secuencia de región variable de anticuerpo comprende un dominio Fab. En algunas modalidades, la secuencia de región variable de anticuerpo comprende dos cadenas pesadas de región variable de anticuerpo y dos cadenas ligeras de región variable de anticuerpo, o sus respectivos fragmentos.

[00070] En algunas modalidades, el polipéptido Fc o el dímero de polipéptidos Fc carece de fucosa o está afucosilado (por ejemplo, como se describe en la presente).

[00071] En otro aspecto, la descripción presenta una composición farmacéutica que comprende un dímero de polipéptidos Fc modificado descrito en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable.

[00072] En otro aspecto, la descripción presenta una composición farmacéutica

que comprende la proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc descrita en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable.

[00073] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por un método de transcitosis de una composición en un endotelio, que comprende el contacto del endotelio con una composición que comprende un dímero de polipéptidos Fc modificado descrito en la presente. En algunas modalidades, el endotelio es la BHE.

[00074] En otro aspecto, la descripción presenta un método de transcitosis de una composición en un endotelio, que comprende el contacto del endotelio con una composición que comprende una proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc descrita en la presente. En algunas modalidades, el endotelio es la BHE.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[00075] Las **Figuras 1A y 1B** son gráficas que muestran que el dímero de polipéptidos Fc de unión al TfR fusionado a un Fab anti-BACE1, en el cual el dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR se modificó para reducir la unión al FcγR con las mutaciones L234A y L235A (LALA) (numeradas según el esquema de numeración EU) en ambos de los polipéptidos Fc del dímero, no disminuyó los reticulocitos ya sea en sangre (Figura 1A) ni en médula ósea (Figura 1B) en ratones con activación de TfR humano (TfR^{ms/hu} KI).

[00076] Las **Figuras 2A-2D** son gráficas que muestran que el dímero de polipéptidos Fc modificado fusionado a un Fab anti-BACE1, en el cual el dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR tiene las mutaciones LALA en la configuración cis respecto al sitio de unión al TfR («cis-LALA»), no disminuyó los reticulocitos en sangre (Figura 2A: a 25 mg/kg; Figura 2C: a 50 mg/kg) o en médula ósea (Figura 2B: a 25 mg/kg; Figura 2D: a 50 mg/kg) en ratones con activación de gen de TfR humano (TfR^{ms/hu} KI), mientras que el dímero de polipéptidos Fc modificado en forma análoga, fusionado a un Fab anti-BACE1, en el cual el dímero de polipéptidos Fc tiene las mutaciones LALA trans respecto al sitio de unión al TfR, sí disminuyó los reticulocitos tanto en sangre como en médula ósea.

[00077] Las **Figuras 3A y 3B** son gráficas que muestran que el dímero de polipéptidos Fc modificado cis-LALA (Figura 3A: CH3C.35.21; Figura 3B: CH3C.35.23), fusionado a un Fab anti-BACE1 y un polipéptido Fc modificado con las mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc fusionados a un Fab anti-

BACE1 no indujo ADCC mediada por TfR, mientras que la hIgG1 con el sitio de unión a TfR pero sin las mutaciones LALA indujo la ADCC en las células de Ramos que expresan el TfR endógeno.

[00078] La **Figura 4** es una gráfica que muestra que el dímero del polipéptido Fc de unión al TfR (CH3C.35.21) no tuvo efectos en la actividad de citotoxicidad dependiente del complemento mediada por TfR (CDC, por sus siglas en inglés), mientras que el anticuerpo testigo anti-TfR Ab204 indujo CDC en células CHO-hTfR.

[00079] La **Figura 5** es una gráfica que muestra que el dímero del polipéptido Fc modificado cis-LALA, fusionado a un Fab anti-BACE1, indujo niveles proteicos pSyk en células microgliales humanas primarias, similares a los observados en el polipéptido de unión al TfR con hIgG1 de tipo salvaje, mientras que el dímero de polipéptidos Fc modificado con mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc fusionados a un Fab anti-BACE1 no indujo pSyk.

[00080] Las **Figuras 6A y 6B** son gráficas que muestran que hIgG1 con un dímero del polipéptido Fc cis-LALA y el sitio de unión a Fab mCD20 generaron ADCC similar a la del anticuerpo anti-mCD20 y hIgG1 con un sitio de unión a TfR y un sitio de unión a Fab mCD20 (Figura 6A). De manera similar, hIgG1 con un dímero del polipéptido Fc cis-LALA y el sitio de unión a Fab hCD20 generaron CDC mediada por Fab en el mismo grado que anti-hCD20 y hIgG1 con un sitio de unión a TfR y sitio de unión a Fab hCD20 (Figura 6B).

[00081] Las **Figuras 7A y 7B** son gráficas que muestran que hIgG1 con un dímero del polipéptido Fc cis-LALA y el sitio de unión a Fab mCD20 generaron una fuerte disminución de linfocitos B, similar al anticuerpo anti-mCD20 y hIgG1 con un sitio de unión a TfR y un sitio de unión a Fab mCD20 (Figuras 7A y 7B). Estos resultados demuestran que el dímero de polipéptidos Fc modificado cis-LALA conserva su función Fc y tiene una función efectora mediada por Fab *in vivo*.

[00082] Las **Figuras 8A, 8B y 8C** son gráficas que muestran que los ratones tratados con anti-A β que tienen un sitio de unión al TfR (CH3C.35.23.4) reclutamiento microglial robusto obtenido de un dímero de polipéptido Fc cis-LALA hacia placas A β (Figura 8A: % de area de placa con superposición microglial; Figura 8B: los mismos datos normalizados a la IgG de control) y

placas reducidas ajustadas a 30-125 μm^2 (Figura 8C). Estos resultados sugieren que los anti-A β que tienen un dímero de polipéptido Fc cis-LALA retienen función efectora robusta para el reclutamiento microglial y la capacidad de reducir algunas placas A β similar a anti-A β .

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. INTRODUCCIÓN

[00083] Los dímeros de polipéptidos Fc modificados que incluyen un sitio de unión al TfR pueden cruzar la BHE, así como transportar sustancias terapéuticas a través de la BHE. Tal como se describe en la presente, estos dímeros de polipéptidos Fc, si no se modifican para reducir la función efectora, también pueden disminuir los reticulocitos *in vivo* dado que los reticulocitos también expresan TfR. La disminución de reticulocitos puede evitarse al introducir modificaciones que eliminan la función efectora en los polipéptidos Fc del dímero de polipéptidos Fc, es decir, modificaciones que eliminan o reducen las sustituciones de unión al receptor de Fc γ (Fc γ R) (por ejemplo, L234A y L235A (LALA), numeradas con referencia al esquema de numeración EU). Sin embargo, este enfoque no es ventajoso en casos en los que la función efectora es deseable cuando la parte Fab de la molécula se une a su diana (por ejemplo, una proteína diana terapéutica).

[00084] La presente descripción proporciona dímeros de polipéptidos Fc modificados que conservan la función efectora pero no generan una disminución considerable de reticulocitos. Estos dímeros de polipéptidos Fc modificados también se denominan «dímeros de polipéptidos Fc de unión al TfR positivos para la función efectora» en la presente. En algunas modalidades, solamente uno de los dos polipéptidos Fc (pero no ambos polipéptidos Fc) del dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR positivo para la función efectora se modifica para reducir la función efectora y unirse a TfR. El otro polipéptido Fc del dímero de polipéptidos Fc modificado no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la función efectora, pero puede contener mutaciones que mejoren la función efectora. Los dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR positivos para la función efectora que tienen solamente uno de los dos polipéptidos Fc que contienen tanto el sitio de unión a TfR como modificaciones que reducen la unión a Fc γ R cuando se une a TfR, mientras que el otro polipéptido Fc no contiene un

sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a Fc γ R, se dice que tienen la configuración cis. Tal como se describe en la presente, estos dímeros de polipéptidos Fc modificados que tienen la configuración cis fueron evaluados para determinar su efecto en reticulocitos. Estos experimentos demostraron que al introducir tanto el sitio de unión a TfR como mutaciones que reducen la unión a Fc γ R cuando se une a TfR solamente a uno de los dos polipéptidos que forman el dímero de polipéptidos Fc modificado, fue posible reducir la función efectora tras la unión a TfR, lo que produjo la unión al TfR sin disminución considerable de reticulocitos.

[00085] Tal como se describió detalladamente en la presente, se fusionaron los dímeros de polipéptidos Fc modificados que tienen configuraciones diferentes a Fab dirigidos contra una diana terapéutica (por ejemplo, CD20) para determinar si la función efectora (por ejemplo, ADCC y CDC) se podía conservar cuando el Fab se une a su diana pero no a TfR. Como se describió detalladamente más adelante, las configuraciones particulares de (a) las modificaciones que reducen la unión a Fc γ R, por ejemplo, cuando se une a TfR, y (b) las modificaciones que producen la unión a TfR en el dímero de polipéptidos Fc modificado pueden producir, cuando el dímero de polipéptidos Fc se fusiona a un Fab, fusiones de Fab-dímero de polipéptidos Fc que aún conservan la función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC), pero no disminuyen los reticulocitos. Este enfoque permite el uso de transporte mediado por TfR a través de la BHE mientras que se conserva la función efectora.

[00086] Por lo tanto, la presente descripción se relaciona, en parte, con dímeros de polipéptidos Fc modificados que se modificaron para unirse a TfR, tienen una reducción en la función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC) cuando se unen a TfR, pero aún conservan la función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC) cuando el dímero del polipéptido Fc se fusiona a un Fab terapéutico y se une al antígeno diana de Fab.

II. DEFINICIONES

[00087] Tal como se utiliza en la presente, las formas singulares «un», «una» y «la/el» incluyen referencias plurales a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a «un polipéptido» puede

incluir dos o más de dichas moléculas, y similares.

[00088] Tal como se utiliza en la presente, las expresiones «alrededor de» y «aproximadamente», cuando se utilizan para modificar una cantidad especificada en un valor o intervalo numérico, indican que el valor numérico, así como también desviaciones razonables del valor conocido por el experto en la técnica, por ejemplo, $\pm 20\%$, $\pm 10\%$ o $\pm 5\%$, se encuentran dentro del significado previsto del valor establecido.

[00089] Tal como se utiliza en la presente, la expresión «polipéptido Fc» hace referencia a la región de extremo C de un polipéptido de cadena pesada de inmunoglobulina de origen natural que se caracteriza por un plegamiento de Ig como dominio estructural. Un polipéptido Fc contiene las secuencias de región constante que incluyen al menos el dominio CH2 y/o el dominio CH3 y pueden contener al menos parte de la región bisagra. En general, un polipéptido Fc no contiene una región variable.

[00090] Un «polipéptido Fc modificado» hace referencia a un polipéptido Fc que tiene al menos una mutación, por ejemplo, una sustitución, eliminación o inserción, en comparación con una secuencia de un polipéptido Fc de cadena pesada de inmunoglobulina de tipo salvaje, pero que conserva el plegamiento de Ig general o la estructura del polipéptido Fc natural.

[00091] Tal como se usa en la presente, la expresión «dímero de polipéptidos Fc» hace referencia a un dímero de dos polipéptidos Fc. En algunas modalidades, un dímero del polipéptido Fc puede unirse a un receptor de Fc (por ejemplo, Fc γ R). En un dímero de polipéptidos Fc, los dos polipéptidos Fc se dimerizan por la interacción entre los dos dominios constantes de anticuerpo CH3. En algunas modalidades, los dos polipéptidos Fc pueden dimerizarse también mediante uno o más enlaces disulfuro que se forman entre los dominios bisagra de los dos monómeros del dominio Fc que se dimerizan. Un dímero de polipéptidos Fc puede ser un dímero de polipéptidos Fc de tipo salvaje o un dímero de polipéptidos Fc modificado. Un dímero de polipéptidos Fc de tipo salvaje se forma mediante la dimerización de dos polipéptidos Fc de tipo salvaje. Un dímero del polipéptido Fc puede ser un heterodímero o un homodímero.

[00092] Tal como se usa en la presente, la expresión «dímero de polipéptidos Fc

modificado» hace referencia a un dímero de polipéptidos Fc que contiene al menos un polipéptido Fc modificado. En algunas modalidades, un dímero de polipéptidos Fc modificado contiene dos polipéptidos Fc modificados. Un dímero de polipéptidos Fc modificado puede ser un homodímero (es decir, contiene dos polipéptidos Fc modificados idénticos) o un heterodímero (es decir, contiene dos polipéptidos Fc diferentes en los cuales al menos uno de los dos polipéptidos Fc es un polipéptido Fc modificado).

[00093] Un «receptor de transferrina» o «TfR», tal como se usa en la presente, hace referencia a una proteína del receptor de transferrina 1. La secuencia de polipéptidos del receptor de transferrina humana 1 se establece en la SEQ ID NO:63. También se conocen las secuencias de la proteína del receptor de transferrina 1 de otras especies (por ejemplo, chimpancé, número de acceso XP_003310238.1; mono rhesus, NP_001244232.1; perro, NP_001003111.1; ganado, NP_001193506.1; ratón, NP_035768.1; rata, NP_073203.1; y pollo, NP_990587.1). La expresión «receptor de transferrina» también comprende variantes alélicas de los ejemplos de las secuencias de referencia, por ejemplo, secuencias humanas, que se codifican mediante un gen en un locus cromosómico de la proteína del receptor de transferrina 1. La proteína del TfR de longitud completa incluye una región intracelular de extremo N corta, una región transmembrana y un dominio extracelular grande. El dominio extracelular se caracteriza por tres dominios: un dominio similar a la proteasa, un dominio helicoidal y un dominio apical. La secuencia de dominio apical del receptor de transferrina humana 1 se establece en la SEQ ID NO:31.

[00094] Tal como se usa en la presente, la expresión «receptor de Fc γ » o «Fc γ R» hace referencia a un tipo de receptores de Fc, que se clasifican según el tipo de anticuerpo que reconocen. Los Fc γ R incluyen varios miembros, Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32), Fc γ RIIB (CD32), Fc γ RIIIA (CD16a) y Fc γ RIIIB (CD16b), que difieren en sus afinidades por anticuerpos debido a sus diferentes estructuras moleculares. Los Fc γ R se unen a la parte Fc de la clase IgG de anticuerpos y son fundamentales para la inducción de la fagocitosis de microbios opsonizados. Los Fc γ R se hallan en la superficie celular de las células en el sistema inmunitario. Los Fc γ R son responsables de la provocación de las funciones efectoras del sistema inmunitario y se activan tras la unión de la parte Fc de un anticuerpo al

receptor. Los Fc γ R median las funciones inmunitarias, por ejemplo, al unirse a anticuerpos que se unen a células infectadas o patógenos invasivos, lo que estimula a las células fagocíticas o citotóxicas para que destruyan los microbios o células infectadas mediante la fagocitosis mediada por anticuerpos o ADCC.

[00095] Tal como se utiliza en la presente, la expresión «reducción de la unión al Fc γ R» hace referencia a un polipéptido Fc modificado o un dímero de polipéptidos Fc modificado que contiene mutaciones en el dominio CH3 del polipéptido Fc modificado, en el cual las mutaciones disminuyen la afinidad del polipéptido Fc modificado por el Fc γ R un 0,01 % a 90 % (por ejemplo, 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 % o 90 %) en comparación con la afinidad de un polipéptido Fc que no contiene mutaciones para reducir la unión al Fc γ R (por ejemplo, un dímero de polipéptidos Fc de tipo salvaje). La unión a Fc γ R se puede medir, por ejemplo, con el uso de métodos de resonancia por plasmones superficiales (SPR, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, un sistema Biacore™). De manera alternativa, la unión a Fc γ R se puede medir con un ensayo funcional, por ejemplo, un ensayo de ADCC tal como uno que se describe en la presente (por ejemplo, un ensayo *in vivo* o *in vitro* de eliminación celular). La reducción de la unión a Fc γ R se puede medir cuando el polipéptido Fc modificado o el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al TfR. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado o el dímero de polipéptidos Fc modificado pueden tener una reducción en la unión al Fc γ R cuando se unen al TfR, pero una reducción limitada (por ejemplo, menor que 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de reducción) o no tenerla cuando se unen a TfR.

[00096] Tal como se describe adicionalmente en la presente, un dímero de polipéptidos Fc modificado puede contener un primer polipéptido Fc que tiene tanto el sitio de unión a TfR como las mutaciones que reducen la unión al Fc γ R cuando se une a TfR y un segundo polipéptido Fc que no tiene ni un sitio de unión a TfR ni mutaciones que reducen la unión a Fc γ R. Por lo tanto, tras el acoplamiento a TfR, el dímero de polipéptidos Fc asimétricos resultante que tiene el primer y el segundo polipéptido Fc puede tener una reducción general de afinidad por Fc γ R. En oposición, puede haber una reducción limitada (por ejemplo, como se describió anteriormente) o no haber reducción en la unión a

Fc γ R cuando no se une a TfR.

[00097] El término «FcRn» hace referencia al receptor Fc neonatal. La unión de polipéptidos Fc a FcRn reduce la eliminación y aumenta la semivida en suero del polipéptido Fc. La proteína FcRn humana es un heterodímero que se compone de una proteína de alrededor de 50 kDa de tamaño que es similar a una proteína de clase I del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) y una β 2-microglobulina de alrededor de 15 kDa en tamaño.

[00098] Tal como se utiliza en la presente, un «sitio de unión a FcRn» hace referencia a una región de un polipéptido Fc que se une a FcRn. En la IgG humana, el sitio de unión a FcRn, como se numera mediante el uso del esquema de numeración EU, incluye L251, M252, I253, S254, R255, T256, M428, H433, N434, H435 y Y436. Estas posiciones corresponden a las posiciones 21 a 26, 198 y 203 a 206 de la SEQ ID NO:1.

[00099] Tal como se utiliza en la presente, un «sitio de unión a FcRn natural» hace referencia a una región de un polipéptido Fc que se une a FcRn y que tiene la misma secuencia de aminoácidos que la región de un polipéptido Fc de origen natural que se une a FcRn.

[000100] Tal como se utiliza en la presente, la expresión «no disminuye considerablemente los reticulocitos *in vivo*» significa que la reducción de reticulocitos (por ejemplo, la reducción en los reticulocitos de la médula ósea o los reticulocitos en circulación) generada por un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, descrito en la presente, o una proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc descrita en la presente que contiene un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, es menor que (por ejemplo, menor que 80 %, 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de) la reducción de reticulocitos (por ejemplo, la reducción de reticulocitos en médula ósea o reticulocitos en circulación) generada por un testigo, por ejemplo, un dímero Fc de unión a TfR correspondiente con la totalidad de la función efectora y/o que no contiene mutaciones que reduzcan la unión a Fc γ R, o un anticuerpo que contenga un dímero Fc de unión a TfR correspondiente con la totalidad de la función efectora y/o que no contenga mutaciones que reduzcan la unión a Fc γ R.

[000101] La expresión «no disminuye considerablemente los reticulocitos *in vivo*» puede significar también que la cantidad o el porcentaje de los reticulocitos restante (por ejemplo, los reticulocitos restantes en médula ósea o en circulación) luego de la dosificación de un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora descrito en la presente, o una proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc descrita en la presente que contiene un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, es mayor que (por ejemplo, al menos 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % mayor que) la cantidad o el porcentaje de reticulocitos restante (por ejemplo, los reticulocitos restantes en la médula ósea o en circulación) luego de la dosificación de un testigo (por ejemplo, un dímero Fc de unión a TfR correspondiente con la totalidad de la función efectora y/o que no contenga mutaciones que reduzcan la unión a FcγR, o un anticuerpo que contenga un dímero Fc de unión a TfR correspondiente con la totalidad de la función efectora y/o que no contenga mutaciones que reduzcan la unión a FcγR).

[000102] La cantidad o el porcentaje de disminución de reticulocitos (por ejemplo, la disminución de reticulocitos en médula ósea o en circulación), o la cantidad o el porcentaje de reticulocitos restante (por ejemplo, los reticulocitos restantes en la médula ósea o en circulación), se puede medir en ratones con activación del gen de TfR humano (TfR^{ms/hu} KI) (por ejemplo, ratones con activación del gen del dominio apical de TfR humano («ratones con activación del gen de hTfR^{apical}»)), que se modifican para remplazar el TfR de ratón con la proteína de TfR quimérica de ratón/dominio apical humano o en un primate no humano, tal como un mono *Cynomolgus*. La medición se puede llevar a cabo mediante la dosificación del dímero Fc modificado o un testigo, por ejemplo, de 25 a 50 mg/kg por vía intravenosa (por ejemplo, a ratones TfR^{ms/hu} KI) y se pueden cuantificar los reticulocitos en circulación a las 24h luego de la dosis mediante reacciones citoquímicas utilizando el sistema de hematología Advia 120, tal como se describe en la presente. Los reticulocitos en médula ósea se pueden cuantificar con la selección por FACS para determinar la población de Ter119⁺, hCD71^{alto}, y la población de FSC^{bajo}, tal como se describe en la presente.

[000103] Las expresiones «dominio CH3» y «dominio CH2», como se utilizan en la presente, hacen referencia a polipéptidos del dominio de la región constante de inmunoglobulina. En el contexto de los anticuerpos de IgG, un polipéptido de

dominio CH3 hace referencia a un segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 341 a alrededor de la posición 447 como se numera de acuerdo con el esquema de numeración EU y un polipéptido de dominio CH2 hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 231 a alrededor de la posición 340 como se numera de acuerdo con el esquema de numeración EU. Los polipéptidos de dominio CH2 y CH3 también pueden numerarse mediante el esquema de numeración IMGT (ImMunoGeneTics) en el que la numeración del dominio CH2 es 1-110 y la numeración del dominio CH3 es 1-107, de acuerdo con la numeración del esquema de IMGT Scientific (sitio web de IMGT). Los dominios CH2 y CH3 son parte de la región Fc de una inmunoglobulina. En el contexto de los anticuerpos IgG, una región Fc hace referencia a un segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 231 a alrededor de la posición 447 como se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU. Tal como se usa en la presente, la expresión «región Fc» también puede incluir al menos una parte de una región bisagra de un anticuerpo. Una secuencia de región bisagra ilustrativa se establece en la SEQ ID NO:62.

[000104] La expresión «región variable» hace referencia a un dominio en una cadena pesada o cadena ligera de un anticuerpo que deriva de un gen de línea germinal Variable (V), un gen de Diversidad (D) o un gen de Unión (J, por su sigla en inglés) (y no deriva de un segmento de gen Constante (C μ y C δ)), y que proporciona a un anticuerpo su especificidad para unirse a un antígeno. Normalmente, una región variable de anticuerpo comprende cuatro regiones «de marco» conservadas separadas con tres «regiones determinantes de la complementariedad» hipervariables.

[000105] Los términos «tipo salvaje», «natural» y «de origen natural», con respecto a un dominio CH3 o CH2 se utilizan en la presente para hacer referencia a un dominio que tiene una secuencia que se da naturalmente.

[000106] Tal como se usa en la presente, el término «mutante», con respecto a un polipéptido mutante o un polinucleótido mutante, se utiliza indistintamente con «variante». Una variante con respecto a una secuencia de referencia de dominio CH3 o CH2 de tipo salvaje puede incluir variantes alélicas de origen natural. Un dominio CH3 o CH2 de origen "artificial" hace referencia a un dominio variante o mutante que no se presenta en una célula naturalmente y que se produce

mediante modificación genética, por ejemplo, mediante el uso de tecnología de modificación genética o técnicas de mutagénesis, de un polinucleótido o polipéptido de dominio CH3 o de dominio CH2 natural. Una "variante" incluye cualquier dominio que comprende al menos una mutación de aminoácidos con respecto al tipo salvaje. Las mutaciones pueden incluir sustituciones, inserciones y eliminaciones.

[000107] El término «aminoácido» hace referencia a aminoácidos sintéticos y de origen natural, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural.

[000108] Los aminoácidos de origen natural son aquellos codificados según el código genético, así como también los aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. «Análogos de aminoácidos» hace referencia a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, sulfonio metílico de metionina. Tales análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o estructuras principales peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. «Miméticos de aminoácidos» hace referencia a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente a la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de una manera similar a un aminoácido de origen natural.

[000109] Los α -aminoácidos de origen natural incluyen, de forma no taxativa, alanina (Ala), cisteína (Cys), ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), fenilalanina (Phe), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), arginina (Arg), lisina (Lys), leucina (Leu), metionina (Met), asparagina (Asn), prolina (Pro), glutamina (Gln), serina (Ser), treonina (Thr), valina (Val), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y combinaciones de estos. Los estereoisómeros de los α -aminoácidos de origen natural incluyen, de forma no taxativa, D-alanina (D-Ala), D-cisteína (D-Cys), ácido D-aspártico (D-Asp), ácido D-glutámico (D-Glu), D-fenilalanina (D-Phe), D-histidina (D-His), D-isoleucina (D-Ile), D-arginina (D-Arg), D-lisina (D-Lys), D-leucina (D-Leu), D-metionina (D-Met), D-asparagina

(D-Asn), D-prolina (D-Pro), D-glutamina (D-Gln), D-serina (D-Ser), D-treonina (D-Thr), D-valina (D-Val), D-triptofano (D-Trp), D-tirosina (D-Tyr) y combinaciones de estos.

[000110] Se hace referencia a los aminoácidos en la presente ya sea por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por sus símbolos de una letra recomendado por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica (*Biochemical Nomenclature Commission*) IUPAC-IUB.

[000111] Los términos «polipéptido» y «péptido» se utilizan de manera intercambiable en la presente para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácidos en una cadena simple. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los cuales uno o más residuos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como también a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural. Los polímeros de aminoácidos pueden comprender aminoácidos totalmente L, aminoácidos totalmente D o una mezcla de aminoácidos L y D.

[000112] El término «proteína», tal como se utiliza en la presente, hace referencia a un polipéptido o a un dímero (es decir, dos) o multímero (es decir, tres o más) de polipéptidos de cadena simple. Los polipéptidos de cadena simple de una proteína pueden unirse mediante un enlace covalente, por ejemplo, un enlace disulfuro o interacciones no covalentes.

[000113] Las expresiones «sustitución conservadora», «mutación conservadora» o «variante modificada en forma conservadora» hacen referencia a una alteración que produce la sustitución de un aminoácido con otro aminoácido que se puede clasificar por tener un rasgo similar. Los ejemplos de categorías de los grupos de aminoácidos conservadores definidos de esta manera pueden incluir: un «grupo cargado/polar» que incluye Glu (ácido glutámico o E), Asp (ácido aspártico o D), Asn (asparagina o N), Gln (Glutamina o Q), Lys (Lisina o K), Arg (Arginina o R) y His (Histidina o H); un «grupo aromático» que incluye Phe (fenilalanina o F), Tyr (tirosina o Y), Trp (triptófano o W) e (histidina o H); y un «grupo alifático» que incluye Gly (glicina o G), Ala (alanina o A), Val (valina o V), Leu (leucina o L), Ile (isoleucina o I), Met (metionina o M), Ser (serina o S), Thr (treonina o T)

y Cys (cisteína o C). Dentro de cada grupo, también pueden identificarse subgrupos. Por ejemplo, el grupo de aminoácidos cargados o polares puede subdividirse en subgrupos que incluyen, un «subgrupo cargado positivamente» que comprende Lys, Arg y His; un «subgrupo cargado negativamente» que comprende Glu y Asp; y un «subgrupo polar» que comprende Asn y Gln. En otro ejemplo, el grupo aromático o cíclico puede subdividirse en subgrupos que incluyen: un «subgrupo de anillo de nitrógeno» que comprende Pro, His y Trp; y un «subgrupo fenilo» que comprende Phe y Tyr. En otro ejemplo adicional, el grupo alifático puede subdividirse en subgrupos, por ejemplo, un «subgrupo no polar alifático» que comprende Val, Leu, Gly y Ala; y un «subgrupo ligeramente polar alifático» que comprende Met, Ser, Thr y Cys. Los ejemplos de categorías de mutaciones conservadoras incluyen sustituciones de aminoácidos de los aminoácidos dentro del subgrupo anterior, tales como, de forma no taxativa: Arg con Lys o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse una carga positiva; Asp con Glu o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse una carga negativa; Thr con Ser o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse un -OH libre; y Asn con Gln o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse -NH₂ libre. En algunas modalidades, los aminoácidos hidrofóbicos se sustituyen por aminoácidos hidrofóbicos de origen natural, por ejemplo, en el sitio activo, para preservar la hidrofobicidad.

[000114] Las expresiones «idéntica» o «porcentaje de identidad», en el contexto de dos o más secuencias de polipéptidos, hace referencia a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos, por ejemplo, al menos 60 % de identidad, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o más, que son idénticos en una región específica, al comparar y alinear para determinar una correspondencia máxima en una ventana de comparación o región designada según se mide mediante el uso de un algoritmo de comparación de secuencias o mediante alineación manual e inspección visual.

[000115] En el caso de comparación de secuencias de polipéptidos, usualmente una secuencia de aminoácidos actúa como secuencia de referencia con la que se compara la secuencia candidata. Puede llevarse a cabo la alineación mediante el uso de diversos métodos disponibles para el experto en la técnica, por ejemplo,

alineación visual o mediante el uso de un software disponible para el público mediante el uso de algoritmos conocidos para lograr una alineación máxima. Dichos programas incluyen los programas BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, sur de San Francisco, Calif.) o Megalign (DNASTAR). Un experto en la técnica puede determinar los parámetros a emplear para una alineación con el fin de lograr una alineación máxima. Para la comparación de secuencias de las secuencias de polipéptidos para los fines de la presente solicitud, se utiliza el algoritmo de proteína estándar para BLAST BLASTP para la alineación de dos secuencias de proteínas con los parámetros por defecto.

[000116] Las expresiones «corresponde a», «determinado con referencia a» o «numerado con referencia a», cuando se utilizan en el contexto de la identificación de un residuo de aminoácidos dado en una secuencia de polipéptidos, hace referencia a la posición del residuo de una secuencia de referencia específica cuando la secuencia de aminoácidos dada se alinea al máximo y se compara con la secuencia de referencia. Por lo tanto, por ejemplo, un residuo de aminoácidos en un polipéptido «corresponde a» un aminoácido en la región de SEQ ID NO:1, cuando el residuo se alinea con el aminoácidos en la SEQ ID NO:1 cuando se alinea de forma óptima con la SEQ ID NO:1. El polipéptido que se alinea con la secuencia de referencia no necesita tener la misma longitud que la secuencia de referencia.

[000117] Tal como se utiliza en la presente, la expresión «se une específicamente» o «se une selectivamente» a una diana, por ejemplo, TfR o FcγR, cuando se hace referencia a un polipéptido que comprende un dominio CH3 modificado tal como se describe en la presente, hace referencia a una reacción de unión por medio de la cual el polipéptido se une a la diana con mayor afinidad, mayor avidez y/o mayor duración que lo que se une a una diana estructuralmente diferente. En modalidades típicas, el polipéptido tiene al menos 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, 100 veces, 1.000 veces, 10.000 veces o más afinidad por una diana específica, por ejemplo, TfR o FcγR, en comparación con una diana no relacionada cuando se evalúa en las mismas condiciones de ensayo de afinidad. Las expresiones «unión específica», «se une específicamente a» o «es específico/a para» una diana particular (por ejemplo, TfR o FcγR), tal como se utiliza en la presente, pueden presentarse, por ejemplo,

para una molécula que tiene una constante de disociación K_D en equilibrio para una diana a la cual se une de, por ejemplo, 10^{-4} M o menor, por ejemplo, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M o 10^{-12} M. En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado se une específicamente a un epítipo en un TfR que se conserva entre especies (por ejemplo, que se conserva en forma estructural entre especies), por ejemplo, que se conserva entre especies de primate no humano y humano (por ejemplo, que se conserva en forma estructural entre especies de primate no humano y humano). En algunas modalidades, un polipéptido puede unirse exclusivamente a un TfR humano.

[000118] La expresión «afinidad de unión», tal como se usa en la presente, hace referencia a la potencia de interacción no covalente entre dos moléculas, por ejemplo, un sitio de unión único en un polipéptido y una diana, por ejemplo, TfR, a la cual se une. Por lo tanto, por ejemplo, la expresión puede hacer referencia a interacciones 1:1 entre un polipéptido y su diana, a menos que se indique lo contrario o resulte claro del contexto. La afinidad de unión puede cuantificarse mediante la medición de una constante de disociación (K_D) en equilibrio, que hace referencia a la constante de velocidad de disociación (k_d , tiempo⁻¹) dividida entre la constante de velocidad de asociación (k_a , tiempo⁻¹ M⁻¹). K_D se puede determinar mediante la medición de la cinética de formación de complejos y disociación, por ejemplo, con el uso de métodos de resonancia por plasmones superficiales (SPR), por ejemplo, un sistema Biacore™; ensayos de exclusión cinética tales como KinExA®; e interferometría BioLayer (por ejemplo, con el uso de la plataforma ForteBio® Octet®). Tal como se utiliza en la presente, «afinidad de unión» incluye no solamente las afinidades de unión formales, tales como las que reflejan las interacciones 1:1 entre un polipéptido y su diana, sino las afinidades evidentes para las cuales se calculan K_D que pueden reflejar unión ávida.

III. POLIPÉPTIDOS FC DE UNIÓN A TFR

[000119] Esta sección describe la generación de polipéptidos Fc modificados que se unen a TfR y que pueden transportarse a través de la barrera hematoencefálica (BHE).

Polipéptidos de unión a TfR CH3

[000120] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado contiene un

dominio CH3 de Ig humana modificado, tal como un dominio CH3 IgG. El dominio CH3 puede ser de cualquiera del subtipo IgG, es decir, de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En el contexto de los anticuerpos IgG, un dominio CH3 hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 341 a alrededor de la posición 447 como se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU. Las posiciones en el dominio CH3 con el fin de identificar el conjunto correspondiente de posiciones de aminoácidos para la unión a TfR se determinan con referencia al esquema de numeración EU, la SEQ ID NO:3 o los aminoácidos 111-217 de la SEQ ID NO:1 a menos que se especifique de otro modo. Las sustituciones también se determinan con referencia al esquema de numeración EU o la SEQ ID NO:1, es decir, se considera que un aminoácido es una sustitución respecto al aminoácido en la posición correspondiente en el esquema de numeración EU o SEQ ID NO:1.

[000121] Tal como se indicó anteriormente, los conjuntos de residuos de un dominio CH3 que se pueden modificar se numeran en la presente con referencia al esquema de numeración EU o la SEQ ID NO:1. Cualquier dominio CH3, por ejemplo, un dominio CH3 IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, puede tener modificaciones, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos, en uno o más conjuntos de residuos que corresponden a residuos en las posiciones observadas en el esquema de numeración EU o la SEQ ID NO:1. Las posiciones de cada una de las secuencias de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 que corresponden a cualquier posición determinada del esquema de numeración EU o la SEQ ID NO:1 se pueden determinar fácilmente.

[000122] El experto en la técnica comprende que los dominios CH3 de otros isotipos de inmunoglobulina, por ejemplo, IgM, IgA, IgE, IgD, *etc.* pueden modificarse de manera similar mediante identificación de aminoácidos en esos dominios que correspondan a las posiciones de aminoácidos descritas en la presente. Las modificaciones también se pueden realizar a dominios correspondientes de inmunoglobulinas de otras especies, por ejemplo, primates no humanos, mono, ratón, rata, conejo, perro, cerdo, pollo y similares.

[000123] En una modalidad, un polipéptido de dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR se une al dominio apical del TfR en un epítipo que comprende la posición 208 de la secuencia de TfR humana de longitud completa

(SEQ ID NO:63), que corresponde a la posición 11 de la secuencia de dominio apical de TfR humano que se establece en la SEQ ID NO:31. La SEQ ID NO:31 corresponde a los aminoácidos 198-378 de la secuencia uniproteica de TfR-1 humano P02786 (SEQ ID NO:63). En algunas modalidades, el polipéptido del dominio CH3 modificado se une al dominio apical del TfR en un epítipo que comprende las posiciones 158, 188, 199, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215 y/o 294 de la secuencia de TfR humano de longitud completa (SEQ ID NO:63). El polipéptido del dominio CH3 modificado puede unirse al TfR sin bloquear ni inhibir de otro modo la unión de la transferrina al receptor. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR no se ve considerablemente inhibida. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR es inhibida en menos de alrededor de 50 % (por ejemplo, menos de alrededor de 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 % o 5 %). En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR es inhibida en menos de alrededor de 20 % (por ejemplo, menos de alrededor de 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 %). Los polipéptidos del dominio CH3 ilustrativos que presentan esta especificidad de unión incluyen polipéptidos que tienen sustituciones de aminoácidos en las posiciones 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 y 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

Conjunto de unión a TfR CH3: 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421

[000124] En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once sustituciones en un conjunto de posiciones de aminoácidos que comprenden 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 y 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU (conjunto CH3C). Las sustituciones ilustrativas que se pueden introducir en estas posiciones se muestran en la Tabla 3. Las sustituciones adicionales se muestran en la Tabla 4. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 388 y/o 421 es un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp, Phe o Tyr. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 388 es Trp. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 388 es Gly. En algunas modalidades, el aminoácido aromático en la posición 421 es Trp o Phe.

[000125] En determinadas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once

posiciones que se seleccionan de las siguientes: Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr o Gln en la posición 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro o Val en la posición 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val o Phe en la posición 386; Val, Pro, Ile o un aminoácido ácido en la posición 387; Trp en la posición 388; un aminoácido alifático, Gly, Ser, Thr o Asn en la posición 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg o Thr en la posición 390; un aminoácido ácido, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile o His en la posición 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln o Arg en la posición 415; Thr, Arg, Asn o un aminoácido ácido en la posición 416; y/o un aminoácido aromático, His o Lys en la posición 421.

[000126] En algunas modalidades, un polipéptido del dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos una posición que tiene una sustitución, de acuerdo con el esquema de numeración EU, tal como a continuación: Leu, Tyr, Met o Val en la posición 384; Leu, Thr, His o Pro en la posición 386; Val, Pro o un aminoácido ácido en la posición 387; un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp o Gly (por ejemplo, Trp) en la posición 388; Val, Ser o Ala en la posición 389; un aminoácido ácido, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro en la posición 413; Thr o un aminoácido ácido en la posición 416; o Trp, Tyr, His o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, grupo de hidrofobicidad, grupo de estructura de anillo de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o grupo de tamaño, y/o grupo polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones en el conjunto. Por lo tanto, por ejemplo, Ile puede encontrarse presente en la posición 384, 386 y/o en la posición 413. En algunas modalidades, el aminoácido ácido en la posición uno, dos o cada una de las posiciones 387, 413 y 416 es Glu. En otras modalidades, el aminoácido ácido en una, dos o cada una de las posiciones 387, 413 y 416 es Asp. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o todas las ocho posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 413, 416 y 421 tienen una sustitución de aminoácidos como se especifica en este párrafo.

[000127] En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 que tiene modificaciones en el conjunto CH3C comprende una Asn natural en la posición 390. En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala o Asp en la posición 390.

En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 380, 391, 392 y 415. En algunas modalidades, Trp, Tyr, Leu o Gln pueden estar presentes en la posición 380. En algunas modalidades, Ser, Thr, Gln o Phe pueden estar presentes en la posición 391. En algunas modalidades, Gln, Phe o His pueden estar presentes en la posición 392. En algunas modalidades, Glu puede estar presente en la posición 415.

[000128] En determinadas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez posiciones que se seleccionan de las siguientes: Trp, Leu o Glu en la posición 380; Tyr o Phe en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu en la posición 387; Trp en la posición 388; Ser, Ala, Val o Asn en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390; Thr o Ser en la posición 413; Glu o Ser en la posición 415; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende la totalidad de las once posiciones de la siguiente manera: Trp, Leu o Glu en la posición 380; Tyr o Phe en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu en la posición 387; Trp en la posición 388; Ser, Ala, Val o Asn en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390; Thr o Ser en la posición 413; Glu o Ser en la posición 415; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421.

[000129] En determinadas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende Leu o Met en la posición 384; Leu, His o Pro en la posición 386; Val en la posición 387; Trp en la posición 388; Val o Ala en la posición 389; Pro en la posición 413; Thr en la posición 416; y/o Trp en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende además Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391. En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380 y/o Gln, Phe o His en la posición 392. En algunas modalidades, Trp se encuentra presente en la posición 380 y/o Gln se encuentra presente en la posición 392. En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado no tiene un Trp en la posición 380.

[000130] En otras modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado comprende Tyr en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu o Val en la posición 387; Trp en la posición 388; Ser en la posición 389; Ser o Thr en la

posición 413; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende una Asn natural en la posición 390. En determinadas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380; y/o Glu en la posición 415. En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende adicionalmente Trp en la posición 380 y/o Glu en la posición 415.

[000131] En modalidades adicionales, el dominio CH3 modificado comprende además una, dos o tres posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 414 es Lys, Arg, Gly o Pro; la posición 424 es Ser, Thr, Glu o Lys; y la posición 426 es Ser, Trp o Gly.

[000132] En algunas modalidades, el dominio CH3 modificado comprende una o más de las siguientes sustituciones: Trp en la posición 380; Thr en la posición 386; Trp en la posición 388; Val en la posición 389; Ser o Thr en la posición 413; Glu en la posición 415; y/o Phe en la posición 421.

[000133] En algunas modalidades, un polipéptido del dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR tiene al menos 70 % de identidad, al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, tal polipéptido de dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 154-160 y/o 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, tal polipéptido de dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 150-160 y/o 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 150-160 y/o 183-196 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270).

[000134] En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado tiene al menos 70 % de identidad, al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de

identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a los aminoácidos 111-217 de la SEQ ID NO:1, siempre que el porcentaje de identidad no incluya el conjunto de las posiciones 154, 156, 157, 158, 159, 160, 183, 186 y 191 de la SEQ ID NO:1 (posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU). En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado que comprende los aminoácidos 154-160 y/o los aminoácidos 183-191 como se establece en cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270).

[000135] En algunas modalidades, un polipéptido de dominio CH3 modificado tiene al menos 70 % de identidad, al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270), siempre que al menos cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince o dieciséis de las posiciones que corresponden a las posiciones 150, 154, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 183, 184, 185, 186, 191, 194 y 196 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) (las posiciones 380, 384, 386, 384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 y 426, de acuerdo con el esquema de numeración EU) no se eliminen ni sustituyan.

[000136] En algunas modalidades, el polipéptido de dominio CH3 modificado tiene al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) y también comprende al menos cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince o dieciséis de las posiciones, como a continuación: Trp, Tyr, Leu, Gln o Glu en la posición 380; Leu, Tyr, Met o Val en la posición 384; Leu, Thr, His o Pro en la posición 386; Val, Pro o un aminoácido ácido en la posición 387; un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp, en la posición 388; Val, Ser o Ala en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390; Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391; Gln, Phe o His en la posición 392; un aminoácido ácido, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro en la posición 413;

Lys, Arg, Gly o Pro en la posición 414; Glu o Ser en la posición 415; Thr o un aminoácido ácido en la posición 416; Trp, Tyr, His o Phe en la posición 421; Ser, Thr, Glu o Lys en la posición 424; y Ser, Trp, o Gly en la posición 426.

[000137] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:38-52. En otras modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:38-52, pero en las cuales se sustituyen uno o dos aminoácidos. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:38-52, pero en las cuales se sustituyen tres aminoácidos.

[000138] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:53-61. En otras modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:53-61, pero en las cuales se sustituyen uno o dos aminoácidos. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:53-61, pero en las cuales se sustituyen tres o cuatro aminoácidos.

[000139] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:131-167. En otras modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:131-167, pero en las cuales se sustituyen uno o dos aminoácidos. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:131-167, pero en las cuales se sustituyen tres aminoácidos.

[000140] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:58, 60, y 168-173. En otras modalidades, un polipéptido de unión a TfR comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:58, 60, y 168-173, pero en las cuales se sustituyen uno o dos aminoácidos. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOS:58, 60, y 168-173, pero en las cuales se sustituyen tres o cuatro aminoácidos.

[000141] En modalidades adicionales, un polipéptido de unión a TfR comprende los

aminoácidos 157-194, los aminoácidos 153-194 o los aminoácidos 153-199, de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En modalidades adicionales, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a los aminoácidos 157-194 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270), o respecto a los aminoácidos 153-194, o respecto a los aminoácidos 153-199, de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270).

[000142] En algunas modalidades, el polipéptido comprende cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En modalidades adicionales, el polipéptido puede tener al menos 75 % de identidad, al menos 80 % de identidad, al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270).

Sitios de unión a FcRn

[000143] Un polipéptido descrito en la presente que puede transportarse a través de la BHE puede comprender adicionalmente un sitio de unión a FcRn. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn se encuentra dentro del polipéptido Fc modificado o un fragmento de este.

[000144] En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn comprende un sitio de unión a FcRn natural. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn no comprende cambios de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de un sitio de unión a FcRn natural. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn natural es un sitio de unión a IgG, por ejemplo, un sitio de unión a IgG humana. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn comprende una modificación que altera la unión a FcRn.

[000145] En algunas modalidades, un sitio de unión a FcRn tiene uno o más residuos de aminoácidos que sufren una mutación, por ejemplo, se sustituyen, en donde la

o las mutaciones aumentan la semivida en suero o no reducen considerablemente la semivida en suero (es decir, reducen la semivida en suero en no más de 25 % en comparación con una proteína equivalente que tiene los residuos de tipo salvaje en las posiciones mutadas cuando se someten a ensayo bajo las mismas condiciones). En algunas modalidades, un sitio de unión a FcRn tiene uno o más residuos de aminoácidos que se sustituyen en las posiciones 21 a 26, 198 y 203 a 206, en donde las posiciones se determinan con referencia a la SEQ ID NO:1.

[000146] En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn comprende una o más mutaciones, respecto a una secuencia de IgG humana natural, que prolonga la semivida en suero del polipéptido modificado. En algunas modalidades, se introduce una mutación, por ejemplo, una sustitución, en una o más de las posiciones 14-27, 49-54, 77-87, 153-160 y 198-205 según se determinó con referencia a la SEQ ID NO:1 (cuyas posiciones corresponden a las posiciones 244-257, 279-284, 307-317, 383-390 y 428-435 con el uso de la numeración EU). En algunas modalidades, se introducen una o más mutaciones en las posiciones 21, 22, 24, 25, 26, 77, 78, 79, 81, 82, 84, 155, 156, 157, 159, 198, 203, 204 o 206, según se determinó con referencia a la SEQ ID NO:1 (cuyas posiciones corresponden a las posiciones 251, 252, 254, 255, 256, 307, 308, 309, 311, 312, 314, 385, 386, 387, 389, 428, 433, 434 o 436 con el uso de la numeración EU). En algunas modalidades, se introducen mutaciones en una, dos o tres posiciones 22, 24 y 25 según se determina con referencia a la SEQ ID NO:1 (que corresponde a las posiciones 252, 254 y 256 con el uso de la numeración EU). En algunas modalidades, las mutaciones son M22Y, S24T y T26E según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado descrito en la presente comprende además las mutaciones M22Y, S24T y T26E. En algunas modalidades, se introducen las mutaciones en una o dos posiciones 198 y 204 según se determina con referencia a la SEQ ID NO:1 (que corresponde a las posiciones 428 y 434 con el uso de la numeración EU). En algunas modalidades, las mutaciones son M198L y N204S según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado descrito en la presente comprende además la mutación N204S con o sin M198L. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende una sustitución en una, dos o las tres posiciones T307, E380 y N434 de acuerdo con la numeración EU (que corresponden a T77, E150 y N204 según se enumeran

con referencia a la SEQ ID NO:1). En algunas modalidades, las mutaciones son T307Q y N434A (SEQ ID NO:1, T77Q y N204A). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones T307A, E380A y N434A (SEQ ID NO:1, T77A, E150A y N204A). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende las sustituciones en las posiciones T250 y M428 (que corresponden a T20 y M198 según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1). En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende las mutaciones T250Q y/o M428L (SEQ ID NO:1, T20Q y M198L). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende las sustituciones en las posiciones M428 y N434 (que corresponden a M198 y N204 según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende las sustituciones M428L y N434S (que corresponden a M198L y N204S según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende una sustitución N434S o N434A (que corresponde a N204S o N204A según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1).

IV. MUTACIONES QUE REDUCEN LA FUNCIÓN EFECTORA O LA UNIÓN A FC γ R

[000147] Un polipéptido Fc tal como se proporciona en la presente que se modifica para unirse a TfR e iniciar el transporte a través de la BHE puede comprender además mutaciones adicionales para reducir la función efectora. Tal como se describe en la presente, al introducir tanto el sitio de unión a TfR como las mutaciones que reducen la unión de Fc γ R al mismo polipéptido Fc del dímero de polipéptidos Fc, fue posible reducir la función efectora tras la unión a TfR, lo que produce una unión a TfR sin disminución considerable de reticulocitos, pero conserva aún la función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC) cuando el dímero de polipéptidos Fc se fusiona con un Fab terapéutico y se une al antígeno diana de Fab.

[000148] En algunas modalidades, un polipéptido Fc que comprende un dominio CH3 modificado tiene una función efectora, es decir, la capacidad de inducir determinadas funciones biológicas tras la unión a un receptor de Fc expresado en una célula efectora que media la función efectora. Las células efectoras incluyen, de modo no taxativo, monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas,

eosinófilos, mastocitos, plaquetas, linfocitos B, linfocitos granulares grandes, células de Langerhans, linfocitos citolíticos naturales (NK, por sus siglas en inglés) y linfocitos T citotóxicos.

[000149] Los ejemplos de funciones efectoras incluyen, de modo no taxativo, unión a C1q y CDC, unión al receptor de Fc, ADCC, fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP, por sus siglas en inglés), regulación por disminución de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B) y activación de linfocitos B. Las funciones efectoras pueden variar con la clase de anticuerpo. Por ejemplo, los anticuerpos de IgG1 e IgG3 humanos naturales pueden producir actividades de ADCC y CDC luego de la unión a un receptor de Fc adecuado presente en una célula del sistema inmunitario; y una IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4 humana natural pueden provocar funciones de ADCP luego de la unión al receptor de Fc adecuado presente en una célula inmunitaria.

[000150] En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene un sitio de unión a TfR tal como se describe en la presente puede incluir modificaciones adicionales que reducen la función efectora, es decir, reducen la función efectora tras la unión a TfR. Es deseable tener una función efectora disminuida tras la unión a TfR de dímero de polipéptidos Fc ya que deriva en una menor disminución de reticulocitos ya que los reticulocitos también tienen TfR en la superficie celular. Tal como se describe con mayor detalle en la presente, los dímeros de polipéptidos Fc que tienen la configuración cis, es decir, dímeros de polipéptidos Fc que tienen tanto el sitio de unión a TfR como las mutaciones que reducen la función efectora en el mismo polipéptido Fc del dímero de polipéptidos Fc, presentan una unión a TfR sin una disminución considerable de reticulocitos, pero conservan aún la función efectora (por ejemplo, ADCC o CDC) cuando el dímero de polipéptidos Fc se fusiona con un Fab terapéutico y se une al antígeno diana del Fab. Es deseable tener función efectora cuando el dímero de polipéptidos Fc se fusiona con un Fab terapéutico que se une al antígeno diana de Fab, por ejemplo, en sustancias terapéuticas contra el cáncer (por ejemplo, sustancias terapéuticas contra el cáncer cerebral).

[000151] Las mutaciones de polipéptidos Fc ilustrativas que modulan una función efectora incluyen, de modo no taxativo, sustituciones en un dominio CH2, por ejemplo, en las posiciones que corresponden a las posiciones 4 y 5 de la SEQ ID

NO:1 (las posiciones 234 y 235 de acuerdo con el esquema de numeración EU). En algunas modalidades, las sustituciones en un dominio CH2 modificado comprenden Ala en las posiciones 4 y 5 de la SEQ ID NO:1. En algunas modalidades, las sustituciones en un dominio CH2 modificado comprenden Ala en las posiciones 4 y 5 y Gly en la posición 99 de la SEQ ID NO:1.

[000152] Las mutaciones de polipéptidos Fc adicionales que modulan una función efectora incluyen, de modo no taxativo, una o más sustituciones en las posiciones 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (esquema de numeración EU, que corresponde a las posiciones 8, 35, 39, 40, 67, 97 y 99 según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1). Las sustituciones ilustrativas (como se numeran con el esquema de numeración EU) incluyen las siguientes: la posición 329 puede tener una mutación en la que la prolina se sustituye con una glicina o arginina o un residuo de aminoácido lo suficientemente grande como para destruir la interfaz del receptor Fc/Fcγ que se forma entre la prolina 329 de Fc y los residuos de triptófano Trp 87 y Trp 110 de FcγRIII. Las sustituciones ilustrativas adicionales incluyen S228P, E233P, L235E, N297A, N297D y P331S. También pueden encontrarse presentes múltiples sustituciones, por ejemplo, L234A y L235A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A y P329G de una región Fc de IgG1 humana; S228P y L235E de una región Fc de IgG4 humana; L234A y G237A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A y G237A de una región Fc de IgG1 humana; V234A y G237A de una región Fc de IgG2 humana; L235A, G237A y E318A de una región Fc de IgG4 humana; y S228P y L236E de una región Fc de IgG4 humana. En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una o más sustituciones de aminoácidos que modulan ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[000153] En algunas modalidades, un polipéptido tal como se describe en la presente puede tener una o más sustituciones de aminoácidos que aumentan o disminuyen ADCC o puede tener mutaciones que alteran la unión a C1q y/o CDC.

[000154] En modalidades particulares, un polipéptido Fc que tiene un sitio de unión a TfR se puede modificar para reducir a función efectora, es decir, reducir la unión a FcγR. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene un sitio de unión a TfR puede incluir las mutaciones L234A y L235A (esquema de numeración EU,

que corresponden a las posiciones 4 y 5 según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1). En otras modalidades, un polipéptido Fc que tiene un sitio de unión a TfR puede incluir las mutaciones L234A, L235A y P329G (esquema de numeración EU, que corresponden a las posiciones 4, 5 y 99 según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1).

V. DÍMEROS DE POLIPÉPTIDOS FC DE UNIÓN A TFR, POSITIVOS PARA LA FUNCIÓN EFECTORA

[000155] En determinados aspectos, la presente descripción proporciona dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivos para la función efectora, que se modifican para unirse a TfR y para tener una menor unión a FcγR cuando se unen a TfR, pero que tienen una reducción limitada de unión a FcγR, o no la tienen, cuando no se unen a TfR. Estos dímeros de polipéptidos Fc modificados se pueden fusionar con Fab terapéuticos para transportarlos a través de la BHE. Estos dímeros de polipéptidos Fc modificados han demostrado tener una menor función efectora tras su unión a TfR. Cuando el dímero de polipéptidos Fc modificado se fusiona con un Fab, el dímero de polipéptidos Fc conserva la función efectora cuando el Fab se une a su diana (por ejemplo, una diana en una célula cancerosa). De esta forma, los dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivos para la función efectora, que se describen en la presente pueden transportar el Fab a través de la BHE sin una disminución considerable de reticulocitos (que también contienen TfR en la superficie celular) y también cumplen con su fin terapéutico al exhibir una función efectora que puede seleccionar como diana los agregados extracelulares (por ejemplo, placas) o determinadas células enfermas (por ejemplo, células cancerosas) en el cerebro para destruir cuando el Fab se une a su diana.

[000156] Los dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivos para la función efectora, que se describe en la presente tienen una configuración cis, que significa que solamente uno (no ambos) de los polipéptidos Fc en el dímero de polipéptidos Fc se modifica para tener un sitio de unión a TfR y modificaciones que reduzcan la unión a FcγR cuando se une a TfR. El otro polipéptido Fc en el dímero de polipéptidos Fc no contiene ni un sitio de unión a TfR ni modificaciones que reduzcan considerablemente la unión a FcγR. Una configuración trans de los

dímeros de polipéptidos Fc modificados hace referencia a un dímero de polipéptidos Fc en el cual uno de los dos polipéptidos Fc contiene un sitio de unión a TfR, mientras que el otro polipéptido Fc contiene modificaciones que reducen la unión a FcγR, por ejemplo, cuando se une a TfR. Como se demuestra en la presente, los dímeros de polipéptidos Fc modificados que tienen la configuración cis, pero no la configuración trans, pueden reducir la disminución de reticulocitos en sangre y en la médula ósea (véase, por ejemplo, las Figuras 2A-2D).

[000157] En una modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR, que se une específicamente a TfR, y las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR.

[000158] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR.

[000159] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L y no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR.

[000160] En una modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con

el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000161] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000162] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000163] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000164] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende

un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000165] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000166] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000167] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al

Fc γ R.

[000168] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000169] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000170] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000171] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de

aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000172] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000173] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000174] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación

que reduzca la unión al FcγR.

[000175] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000176] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000177] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000178] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo

con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000179] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000180] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000181] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al Fc γ R.

[000182] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo

para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A, y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000183] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G y las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000184] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000185] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin

M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000186] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, y las modificaciones de aminoácidos M252Y, S254T y T256E, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

[000187] En otra modalidad, un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR, positivo para la función efectora, comprende: (a) un primer polipéptido Fc que comprende un sitio de unión a TfR que se une específicamente a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G, las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y no contiene un sitio de unión al TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión al FcγR.

VI. MEDICIÓN DE LA FUNCIÓN EFECTORA O UNIÓN A FCγR

[000188] Se conocen en la técnica métodos para analizar la afinidad de unión, la cinética de unión y la reactividad cruzada entre un dímero de polipéptidos Fc y FcγR. Estos métodos incluyen, de forma no taxativa, ensayos de unión de fase sólida (por ejemplo, ensayo ELISA), inmunoprecipitación, resonancia por plasmones superficiales (por ejemplo, Biacore™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ)), ensayos de exclusión cinética (por ejemplo, KinExA®), citometría de flujo, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés), interferometría BioLayer (por ejemplo, Octet® (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA)) y análisis de transferencia Western. En algunas modalidades, se utiliza

ELISA para determinar la afinidad de unión y/o la reactividad cruzada. Los métodos para llevar a cabo ensayos ELISA son conocidos en la técnica. En algunas modalidades, se utiliza resonancia por plasmones superficiales (SPR) para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan los ensayos de exclusión cinética para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan los ensayos de interferometría BioLayer para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada.

[000189] ADCC es un tipo de respuesta inmune en la cual los anticuerpos se unen a antígenos en la superficie de células diana patogénicas o tumorigénicas y las identifica para su destrucción por parte de células efectoras, por ejemplo, células mononucleares de sangre periférica (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), linfocitos T y linfocitos B). Las células efectoras que portan Fc γ R reconocen y se unen a la región Fc de los anticuerpos unidos a la célula diana. Por lo tanto, los anticuerpos confieren especificidad a la destrucción de células diana. CDC comienza cuando C1q, el componente de inicio de la vía de complemento clásica, se une a la región Fc de los anticuerpos de unión a diana. Se pueden determinar las actividades de ADCC y CDC en un ensayo estándar *in vivo* o *in vitro* de destrucción celular. Los métodos para determinar las actividades ADCC y CDC se encuentran disponibles en la técnica. En algunas modalidades, los métodos pueden implicar el marcaje de células diana con un material radioactivo, tal como ^{51}Cr , o un tinte fluorescente, tal como Calceína-AM. Las células marcadas pueden incubarse con el anticuerpo y las células efectoras y la eliminación de las células diana por ADCC o CDC se puede detectar mediante la liberación de radioactividad o fluorescencia.

[000190] Otros ensayos para medir las actividades de ADCC y CDC incluyen, por ejemplo, un ensayo de liberación de lactato deshidrogenasa (LDH). Cuando las membranas celulares se encuentran en peligro o dañadas de cualquier modo, se libera LDH, una enzima soluble y sin embargo estable en el citoplasma, al espacio extracelular circundante. La presencia de esta enzima en el medio de cultivo se puede usar como marcador de muerte celular. Las cantidades relativas de células vivas y muertas dentro del medio pueden cuantificarse luego mediante la medición de la cantidad de LDH liberada con un ensayo de citotoxicidad de LDH

colorimétrico o fluorométrico.

VII. MUTACIONES ADICIONALES EN UNA REGIÓN FC QUE COMPRENDE UN POLIPÉPTIDO DEL DOMINIO CH3 MODIFICADO

[000191] Un polipéptido Fc tal como se proporciona en la presente que se modifica para unirse a TfR e iniciar el transporte a través de la BHE también puede comprender mutaciones adicionales, por ejemplo, para aumentar la estabilidad en suero o la semivida en suero, para modular la función efectora, para influenciar la glicosilación, para reducir la inmunogenicidad en humanos y/o para posibilitar la heterodimerización de botón y ojal de los polipéptidos Fc.

[000192] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado descrito en la presente tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos alrededor de 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % respecto a un polipéptido Fc correspondiente de tipo salvaje (por ejemplo, un polipéptido Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana).

[000193] Un polipéptido Fc modificado descrito en la presente también puede tener otras mutaciones que se introducen fuera de los conjuntos específicos de aminoácidos, por ejemplo, para influenciar la glicosilación, para aumentar la semivida en suero o, para los dominios CH3, para proporcionar la heterodimerización de botón y ojal de los polipéptidos que comprenden el dominio CH3 modificado. En general, el método implica la introducción de una protuberancia («botón») en la interfaz de un primer polipéptido y una cavidad correspondiente («ojal») en la interfaz de un segundo polipéptido, de modo que la protuberancia se pueda ubicar en la cavidad para promover la formación de heterodímeros e impedir la formación de homodímeros. Las protuberancias se construyen mediante la sustitución de cadenas laterales cortas de aminoácidos de la interfaz del primer polipéptido con cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean cavidades compensatorias de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en la interfaz del segundo polipéptido mediante el remplazo de las cadenas laterales de aminoácidos grandes con cadenas más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Tales mutaciones adicionales se encuentran en una posición en el polipéptido que no tiene un efecto negativo en

la unión del dominio CH3 modificado al Tfr.

[000194] En una modalidad ilustrativa de un enfoque de botón y ojal para dimerización, una posición correspondiente a la posición 136 de la SEQ ID NO:1 de una primera subunidad de polipéptidos Fc que se va a dimerizar tiene un triptófano en lugar de una treonina natural y una segunda subunidad de polipéptido Fc del dímero tiene una valina en una posición correspondiente a la posición 177 de la SEQ ID NO:1 en lugar de la tirosina natural. La segunda subunidad del polipéptido Fc puede comprender además una sustitución en la cual la treonina natural en la posición correspondiente a la posición 136 de la SEQ ID NO:1 se sustituye con una serina y una leucina natural en la posición correspondiente a la posición 138 de la SEQ ID NO:1 se sustituye con una alanina.

[000195] Un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente se puede modificar también para contener otras modificaciones para la heterodimerización, por ejemplo, modificaciones electrostáticas de los residuos de contacto dentro de una interfaz CH3-CH3 que se cargan naturalmente o modificaciones del parche hidrofóbico.

[000196] En algunas modalidades, pueden introducirse modificaciones para potenciar la semivida en suero. Por ejemplo, en algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente comprende un dominio CH2 que comprende una Tyr en una posición correspondiente a la posición 22 de la SEQ ID NO:1, una Thr en una posición correspondiente a 24 de la SEQ ID NO:1 y Glu en una posición correspondiente a la posición 26 de la SEQ ID NO:1. De manera alternativa, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente puede comprender sustituciones M198L y N204S según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1. De manera alternativa, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente puede comprender una sustitución N204S o N204A según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1.

Polipéptidos Fc ilustrativos que comprenden mutaciones adicionales

[000197] Un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1,

CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede comprender mutaciones adicionales que incluyen una mutación de botón (por ejemplo, T136W según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y/o mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, (i) M22Y, S24T y T26E según se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1, o (ii) N204S con o sin M198L según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1).

[000198] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1, y CH3C.35.23.1.1) puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se puede modificar para que tenga una mutación de botón.

[000199] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por

ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener una mutación de botón y mutaciones que modulan la función efectora.

[000200] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero (por ejemplo, (i) M22Y, S24T y T26E según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1 o (ii) N204S con o sin M198L según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener una mutación de botón y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero.

[000201] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero (por ejemplo, (i) M22Y, S24T y T26E según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1 o (ii) N204S con o sin M198L según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274

(por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener una mutación de botón, mutaciones que modulan la función efectora y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero.

[000202] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1, y CH3C.35.23.1.1) puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se puede modificar para que tenga mutaciones de ojal.

[000203] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) según se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener mutaciones de ojal y mutaciones que modulan la función efectora.

[000204] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23,

CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero (por ejemplo, (i) M22Y, S24T y T26E según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1 o (ii) N204S con o sin M198L según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener mutaciones de ojal y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero.

[000205] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente (por ejemplo, cualquiera de los clones CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.35.23.2.1 y CH3C.35.23.1.1) puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero (por ejemplo, (i) M22Y, S24T y T26E según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1 o (ii) N204S con o sin M198L según se enumera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270). En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29, 64-127 y 268-274 (por ejemplo, SEQ ID NOS:66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270) se pueden modificar para tener mutaciones de ojal, mutaciones que modulan la función efectora y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o semivida en suero.

Clon CH3C.35.20.1

[000206] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:177. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:177.

[000207] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:178 o 179. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:178 o 179.

[000208] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:180. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:180.

[000209] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:322. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:322.

[000210] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:181 o 182. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:181 o 182.

[000211] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:323 o 324. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:323 o 324.

[000212] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:183. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:183.

[000213] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A,

L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:184 o 185. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:184 o 185.

[000214] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:186. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:186.

[000215] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:325. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:325.

[000216] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:187 o 188. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con

mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:187 o 188.

[000217] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:326 o 327. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:326 o 327.

Clon CH3C.35.23.2

[000218] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:189. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:189.

[000219] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:190 o 191. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:190 o 191.

[000220] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID

NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:192. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:192.

[000221] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:329. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:329.

[000222] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:193 o 194. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:193 o 194.

[000223] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en

suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:330 o 331. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:330 o 331.

[000224] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:195. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:195.

[000225] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:196 o 197. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:196 o 197.

[000226] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:198. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:198.

[000227] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener mutaciones de

ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:332. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:332.

[000228] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:199 o 200. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:199 o 200.

[000229] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:333 o 334. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:333 o 334.

Clon CH3C.35.23.3

[000230] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:201. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:201.

[000231] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:202 o 203. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:202 o 203.

[000232] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:204. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:204.

[000233] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:336. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:336.

[000234] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:205 o 206. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:205 o 206.

[000235] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:337 o 338. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:337 o 338.

[000236] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:207. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las mutaciones de ojal y la secuencia de la SEQ ID NO:207.

[000237] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A,

L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:208 o 209. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:208 o 209.

[000238] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:210. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[000239] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:339. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:339.

[000240] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:211 o 212. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las

mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:211 o 212.

[000241] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:340 o 341. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.3 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:340 o 341.

Clon CH3C.35.23.4

[000242] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:213. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:213.

[000243] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:214 o 215. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:214 o 215.

[000244] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID

NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:216. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:216.

[000245] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:343. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:343.

[000246] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217 o 218. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:217 o 218.

[000247] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en

suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:344 o 345. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:344 o 345.

[000248] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:219. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:219.

[000249] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:220 o 221. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:220 o 221.

[000250] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:222. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:222.

[000251] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener mutaciones de

ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:346. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:346.

[000252] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223 o 224. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:223 o 224.

[000253] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:347 o 348. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.4 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:347 o 348.

Clon CH3C.35.21.17.2

[000254] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:225. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:225.

[000255] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:226 o 227. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:226 o 227.

[000256] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:228. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:228.

[000257] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:350. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:350.

[000258] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:229 o 230. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:229 o 230.

[000259] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:351 o 352. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:351 o 352.

[000260] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:231. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:231.

[000261] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo,

L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:232 o 233. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:232 o 233.

[000262] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:234. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:234.

[000263] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:353. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:353.

[000264] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:235 o 236. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con

las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:235 o 236.

[000265] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:354 o 355. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21.17.2 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:354 o 355.

Clon CH3C.35.23

[000266] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:237. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:237.

[000267] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:238 o 239. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:238 o 239.

[000268] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID

NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:240. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:240.

[000269] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:357. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:357.

[000270] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:241 o 242. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:241 o 242.

[000271] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en

suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:358 o 359. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:358 o 359.

[000272] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:243. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:243.

[000273] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:244 o 245. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:244 o 245.

[000274] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:246. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:246.

[000275] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener mutaciones de

ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:360. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:360.

[000276] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:247 o 248. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:247 o 248.

[000277] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:361 o 362. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:361 o 362.

Clon CH3C.35.21

[000278] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:250. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:250.

[000279] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:252 o 275. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:252 o 275.

[000280] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:276. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:276.

[000281] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:364. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:364.

[000282] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:277 o 278. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:277 o 278.

[000283] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:365 o 366. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:365 o 366.

[000284] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:279. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:279.

[000285] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A,

L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:280 o 281. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:280 o 281.

[000286] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:282. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[000287] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:367. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:367.

[000288] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:283 o 284. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las

mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:283 o 284.

[000289] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:368 o 369. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.21 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:368 o 369.

Clon CH3C.35.20.1.1

[000290] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:285. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:285.

[000291] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286 o 287. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:286 o 287.

[000292] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una

mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:288. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:288.

[000293] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:371. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:371.

[000294] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:289 o 290. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:289 o 290.

[000295] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con

referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:372 o 373. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:372 o 373.

[000296] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:291. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[000297] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:292 o 293. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:292 o 293.

[000298] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:294. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:294.

[000299] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:374. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:374.

[000300] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:295 o 296. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:295 o 296.

[000301] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:375 o 376. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.20.1.1 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:375 o 376.

Clon CH3C.35.23.2.1

[000302] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:297. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:297.

[000303] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:298 o 299. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:298 o 299.

[000304] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:300. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:300.

[000305] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:378. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón y las mutaciones

que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:378.

[000306] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:301 o 302. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:301 o 302.

[000307] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:379 o 380. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:379 o 380.

[000308] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:303. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:303.

[000309] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:304 o 305. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:304 o 305.

[000310] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:306. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:306.

[000311] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:381. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:381.

[000312] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se

numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:307 o 308. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:307 o 308.

[000313] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:382 o 383. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.2.1 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:382 o 383.

Clon CH3C.35.23.1.1

[000314] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:309. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón tiene la secuencia de la SEQ ID NO:309.

[000315] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:310 o 311. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón y las

mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:310 o 311.

[000316] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:312. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:312.

[000317] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:385. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:385.

[000318] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:313 o 314. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:313 o 314.

[000319] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T136W tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:386 o 387. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con la mutación de botón, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:386 o 387.

[000320] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:315. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las mutaciones de ojal tiene la secuencia de la SEQ ID NO:315.

[000321] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:316 o 317. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que modulan la función efectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO:316 o 317.

[000322] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:318. En

algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:318.

[000323] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1) y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de SEQ ID NO:388. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las mutaciones de ojal y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:388.

[000324] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, M22Y, S24T y T26E tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:319 o 320. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:319 o 320.

[000325] En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 puede tener las mutaciones de ojal (por ejemplo, T136S, L138A y Y177V tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L4A, L5A y/o P99G (por ejemplo, L4A y L5A) tal como se numeran con referencia a la SEQ ID NO:1), las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero (por ejemplo, N204S con o sin M198L tal como se numera con referencia a la SEQ ID NO:1), y al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:389 o 390. En algunas modalidades, el clon CH3C.35.23.1.1 con las

mutaciones de ojal, las mutaciones que modulan la función efectora y las mutaciones que aumentan la estabilidad en suero o la semivida en suero tiene la secuencia de la SEQ ID NO:389 o 390.

VIII. FORMATOS PARA PROTEÍNAS DE UNIÓN A TFR

[000326] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a Tfr modificado tal como se describe en la presente es una subunidad de un dímero de proteína. En algunas modalidades, el dímero es un heterodímero. En algunas modalidades, el dímero es un homodímero. En algunas modalidades, el dímero comprende un polipéptido Fc individual que se une al receptor Tfr, es decir, es monovalente para la unión al receptor Tfr. En algunas modalidades, el dímero comprende un segundo polipéptido que se une al receptor Tfr. El segundo polipéptido puede comprender el mismo polipéptido Fc modificado para proporcionar una proteína de homodímero bivalente o un segundo polipéptido Fc modificado descrito en la presente puede proporcionar un segundo sitio de unión al receptor Tfr.

[000327] Los polipéptidos de unión a Tfr descritos en la presente y las proteínas dimericas o multiméricas que comprenden los polipéptidos pueden tener un amplio espectro de afinidades de unión, por ejemplo, según el formato del polipéptido. Por ejemplo, en algunas modalidades, un polipéptido que comprende un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente tiene una afinidad por el Tfr que varía de cualquiera de 1 pM a 10 μ M. En algunas modalidades, la afinidad puede medirse en un formato monovalente. En otras modalidades, la afinidad se puede medir en un formato bivalente, por ejemplo, como un dímero de proteína que comprende un polipéptido Fc modificado.

[000328] Son conocidos en la técnica los métodos para analizar la afinidad de unión, la cinética de unión y la reactividad cruzada para analizar la unión a Tfr. Estos métodos incluyen, de forma no taxativa, ensayos de unión de fase sólida (por ejemplo, ensayo ELISA), inmunoprecipitación, resonancia por plasmones superficiales (por ejemplo, Biacore™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ)), ensayos de exclusión cinética (por ejemplo, KinExA®), citometría de flujo, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés), interferometría BioLayer (por ejemplo, Octet® (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA)) y análisis de transferencia Western. En algunas modalidades, se utiliza ELISA

para determinar la afinidad de unión y/o la reactividad cruzada. Se conocen en la técnica los métodos para llevar a cabo ensayos ELISA y también se describen en la sección de Ejemplos más adelante. En algunas modalidades, se utiliza resonancia por plasmones superficiales (SPR) para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan los ensayos de exclusión cinética para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan los ensayos de interferometría BioLayer para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. La unión a FcRn del polipéptido de unión a TfR también se puede evaluar con el uso de estos tipos de ensayos. La unión a FcRn se evalúa normalmente en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de alrededor de 5 a alrededor de 6.

IX. CONJUGADOS PROTEICOS DE UNIÓN A TFR

[000329] En algunas modalidades, un polipéptido modificado que se une a TfR e inicia el transporte a través de la BHE comprende un polipéptido Fc modificado tal como se describe en la presente y que comprende además una región bisagra total o parcial. La región bisagra puede ser de cualquier isotipo o subclase de inmunoglobulina. Una bisagra de inmunoglobulina ilustrativa es una región bisagra IgG, tal como una región bisagra IgG1, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de bisagra de IgG1 humana EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:62). En modalidades adicionales, el polipéptido, que puede comprender una región bisagra o bisagra parcial, se fusiona además a otro resto, por ejemplo, una región variable de inmunoglobulina, lo que genera por tanto un polipéptido de fusión de región variable-polipéptido de unión a TfR. La región variable puede unirse a cualquier antígeno de interés, por ejemplo, una diana neurológica terapéutica o una diana neurológica de diagnóstico.

[000330] En algunas modalidades, el polipéptido de unión a TfR (por ejemplo, el polipéptido Fc modificado) se fusiona a una región variable mediante un enlazador. Tal como se indica en el párrafo anterior, el polipéptido de unión a TfR (por ejemplo, el polipéptido Fc modificado) se puede fusionar a la región variable mediante una región bisagra. En algunas modalidades, el polipéptido de unión a TfR (por ejemplo, el polipéptido Fc modificado) se puede fusionar a la región variable mediante un enlazador peptídico. El enlazador peptídico se puede

configurar de modo que posibilite la rotación de la región variable y el péptido de unión a TfR uno respecto al otro; y/o sea resistente a la digestión de proteasas. En algunas modalidades, el enlazador puede ser un enlazador flexible, por ejemplo, que contenga aminoácidos tales como Gly, Asn, Ser, Thr, Ala y similares. Tales enlazadores se diseñan utilizando parámetros conocidos. Por ejemplo, el enlazador puede tener repeticiones, tales como repeticiones Gly-Ser.

[000331] La región variable puede encontrarse en cualquier formato de anticuerpo, por ejemplo, un formato Fab o scFv. En algunas modalidades, una secuencia de región variable de anticuerpo comprende dos cadenas pesadas de región variable de anticuerpo y dos cadenas ligeras de región variable de anticuerpo, o sus respectivos fragmentos.

[000332] También se puede fusionar un polipéptido de unión a TfR (por ejemplo, un polipéptido Fc modificado) a un polipéptido que no sea una región variable de inmunoglobulina que se dirija a un antígeno de interés. En algunas modalidades, tal polipéptido se fusiona al polipéptido de unión a TfR con el uso de un enlazador peptídico, por ejemplo, un enlazador flexible, tal como se describió anteriormente.

[000333] En algunas modalidades, un polipéptido de unión a TfR se puede fusionar a un polipéptido, por ejemplo, un polipéptido terapéutico, que es deseable para seleccionar como diana una célula que exprese al polipéptido de unión a TfR. En algunas modalidades, el polipéptido de unión a TfR se fusiona a un polipéptido biológicamente activo para el transporte a través de la BHE, por ejemplo, una proteína soluble, por ejemplo, un dominio extracelular de un receptor o un factor de crecimiento, una citocina o una enzima.

[000334] Aún en otras modalidades, el polipéptido de unión a TfR se puede fusionar a un péptido o una proteína útil en la purificación de proteínas, por ejemplo, polihistidina, etiquetas de epítopos, por ejemplo, FLAG, c-Myc, etiquetas de hemaglutinina y similares, glutatión S transferasa (GST), tiorredoxina, proteína A, proteína G o proteína de unión a maltosa (MBP, por sus siglas en inglés). En algunos casos, el péptido o la proteína a la cual se fusiona el polipéptido de unión a TfR puede comprender un sitio de escisión de proteasa, tal como un sitio de escisión para el Factor Xa o trombina. En determinadas modalidades, el enlace se puede escindir por una enzima presente en el sistema nervioso central.

[000335] Los agentes no polipeptídicos también se pueden unir a un polipéptido de unión a TfR. Tales agentes incluyen agentes citotóxicos, agentes de imagenología, una molécula de ADN o ARN o un compuesto químico. En algunas modalidades, el agente puede ser un compuesto químico de imagenología o terapéutico. En algunas modalidades, el agente es una molécula pequeña, por ejemplo, menor que 1000 Da, menor que 750 Da o menor que 500 Da.

[000336] Un agente, ya sea un polipéptido o no polipéptido, puede unirse a la región de extremo N o de extremo C del polipéptido de unión a TfR, o unirse a cualquier región del polipéptido siempre que el agente no interfiera con la unión del polipéptido de unión a TfR al TfR.

[000337] En varias modalidades, los conjugados se pueden generar con reactivos de reticulación químicos conocidos y protocolos. Por ejemplo, hay una gran cantidad de agentes de reticulación químicos que son conocidos para el experto en la técnica y son útiles para la reticulación del polipéptido con un agente de interés. Por ejemplo, los agentes de reticulación son reticuladores heterobifuncionales, que se pueden usar para enlazar moléculas en etapas. Los reticuladores heterobifuncionales proporcionan la capacidad de diseñar métodos de acoplamiento más específicos para conjugar proteínas, lo que reduce de este modo las apariciones de reacciones secundarias no deseadas tales como polímeros homoproteicos.

[000338] El agente de interés puede ser un agente terapéutico, inclusive agentes citotóxicos y similares, o un resto químico. En algunas modalidades, el agente puede ser un péptido o un agente de imagenología o terapéutico de molécula pequeña.

X. MÉTODOS PARA AUMENTAR LA FUNCIÓN EFECTORA

[000339] Para algunas aplicaciones, es deseable introducir modificaciones dentro de los polipéptidos Fc modificados o los dímeros de polipéptidos Fc modificados descritos en la presente que aumentan la función efectora (por ejemplo, ADCC). Un método para aumentar la función efectora implica producir polipéptidos Fc modificados o dímeros de polipéptidos Fc modificados que están afucosilados o carecen de fucosa.

[000340] Un enfoque para generar polipéptidos Fc modificados o dímeros de polipéptidos Fc modificados carentes de fucosa es usar un análogo de fucosa tal como 2-fluorofucosa (2-FF). Los análogos de fucosa pueden disminuir o reducir la disponibilidad de la GDP-fucosa, que es un sustrato necesario para que las fucosiltransferasas incorporen fucosa a las proteínas.

[000341] Un enfoque alternativo para generar polipéptidos Fc modificados o dímeros de polipéptidos Fc modificados carentes de fucosa, que se usa comúnmente para la producción comercial, es emplear una línea celular con inactivación de alfa-1,6 fucosiltransferasa (*FUT8*) para la expresión de los polipéptidos Fc modificados o los dímeros de polipéptidos Fc modificados. Un ejemplo no taxativo de una línea celular con desactivación de *FUT8* es la línea celular con desactivación de *FUT8* de ovario de hámster chino (CHO) disponible de Lonza Biologics. Además, tal como se describe en Mori *et ál.* (*Biotechnol. Bioeng.* (2004) 88:901-908; que se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad), se puede usar ARN interferente pequeño *FUT8* (ARNip) para convertir líneas celulares CHO (por ejemplo, mediante expresión constitutiva del ARNip *FUT8*) para la producción de proteínas carentes de fucosa.

XI. ÁCIDOS NUCLEICOS, VECTORES Y CÉLULAS HOSPEDADORAS

[000342] Los polipéptidos de unión a TfR modificados tal como se describen en la presente se preparan normalmente con métodos recombinantes. Por consiguiente, los ácidos nucleicos aislados comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de los polipéptidos que comprenden polipéptidos Fc modificados tal como se describen en la presente, y las células hospedadoras en las cuales se introducen los ácidos nucleicos que se usan para replicar los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos y/o para expresar los polipéptidos. En algunas modalidades, la célula hospedadora es eucariota, por ejemplo, una célula humana.

[000343] En otro aspecto, se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que Codifica los polipéptidos descritos en la presente. Los polinucleótidos pueden ser de cadena simple o de cadena doble. En algunas modalidades, el polinucleótido es ADN. En modalidades particulares, el polinucleótido es ADNc. En algunas modalidades, el polinucleótido es ARN.

[000344] En algunas modalidades, el polinucleótido se incluye dentro de una construcción de ácido nucleico. En algunas modalidades, la construcción es un vector replicable. En algunas modalidades, el vector se selecciona de un plásmido, un vector viral, un fagémido, un vector cromosómico de levadura y un vector de mamífero no episomal.

[000345] En algunas modalidades, el polinucleótido se enlaza en forma operativa a una o más secuencias de nucleótidos reguladoras en una construcción de expresión. En una serie de modalidades, las construcciones de expresión de ácido nucleico se adaptan para su uso como biblioteca de expresión superficial. En algunas modalidades, la biblioteca se adapta para expresión superficial en levaduras. En algunas modalidades, la biblioteca se adapta para la expresión superficial en fagos. En otra serie de modalidades, las construcciones de expresión de ácidos nucleicos se adaptan para la expresión del polipéptido en un sistema que permita el aislamiento del polipéptido en cantidades de miligramos o gramos. En algunas modalidades, el sistema es un sistema de expresión de células de mamíferos. En algunas modalidades, el sistema es un sistema de expresión celular de levaduras.

[000346] Los vehículos de expresión para la producción de un polipéptido recombinante incluye plásmidos y otros vectores. Por ejemplo, los vectores adecuados incluyen plásmidos de los siguientes tipos: plásmidos derivados de pBR322, plásmidos derivados de pEMBL, plásmidos derivados de pEX, plásmidos derivados de pBTac y plásmidos derivados de pUC para la expresión en células procariotas, tales como *E. coli*. Los vectores derivados de pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo y pHyg son ejemplos de vectores de expresión de mamíferos adecuados para la transfección de células eucariotas. De manera alternativa, se pueden usar derivados de virus tales como el virus del papiloma bovino (BPV-1) o el virus Epstein-Barr (derivados de pHEBo, pREP y p205) para la expresión transitoria de polipéptidos en células eucariotas. En algunas modalidades, puede ser deseable expresar el polipéptido recombinante con el uso de un sistema de expresión en baculovirus. Los ejemplos de tales sistemas de expresión en baculovirus incluyen vectores derivados de pVL (tales como pVL1392, pVL1393 y pVL941), vectores derivados de pAcUW (tales como

pAcUW1) y vectores derivados de pBlueBac. Los sistemas de expresión adicionales incluyen adenovíricos, virus adenoasociados y otros sistemas de expresión viral.

[000347] Los vectores se pueden transformar en cualquier célula hospedadora adecuada. En algunas modalidades, las células hospedadoras, por ejemplo, células de bacterias o levaduras, se pueden adaptar para su uso como una biblioteca de expresión superficial. En algunas células, los vectores se expresan en células hospedadoras para expresar cantidades relativamente grandes del polipéptido. Tales células hospedadoras incluyen células de mamífero, células de levaduras, células de insectos y células procariotas. En algunas modalidades, las células son células de mamífero, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de riñón de hámster bebé (BHK, por sus siglas en inglés), células NS0, células Y0, células HEK293, células COS, células Vero o células HeLa.

[000348] Se puede cultivar una célula hospedadora transfectada con un vector de expresión que codifica un polipéptido de unión a TfR en condiciones adecuadas para permitir que se dé la expresión del polipéptido. Los polipéptidos pueden secretarse y aislarse de una mezcla de células y medio que contiene los polipéptidos. Alternativamente, el polipéptido se puede retener en el citoplasma o en una fracción de membrana y se pueden recolectar y lisar las células y el polipéptido aislado con un método deseado.

XII. EJEMPLOS

[000349] Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar modalidades específicas de la descripción. Los expertos en la técnica deben observar que las técnicas descritas en los ejemplos a continuación representan técnicas que funcionan de forma correcta en la práctica de la descripción y, por lo tanto, se puede considerar que constituyen modos específicos de ponerla en práctica. No obstante, los expertos en la técnica, en función de la presente descripción, deben observar que se pueden realizar diversos cambios en las modalidades específicas descritas y seguir obteniendo un resultado igual o similar sin alejarse del espíritu y alcance de la descripción.

Ejemplo 1. Generación de polipéptidos de unión a TfR

[000350] Los polipéptidos Fc que se unen a TfR fueron modificados con el uso de bibliotecas combinatorias como posiciones específicas en la región CH3 y con la selección de estas bibliotecas para aglutinantes para TfR humano. La maduración por afinidad de las secuencias de unión a TfR iniciales condujeron a la identificación de polipéptidos Fc de unión a TfR, por ejemplo, el polipéptido Fc que tiene la secuencia de SEQ ID NO:66. Se construyó una fusión de Fab-dímero de polipéptidos Fc que contiene un dímero de polipéptidos Fc heterodimérico mediante la coexpresión de los siguientes tres polipéptidos en una relación de 1:1:2, respectivamente. La proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc tetramérico resultante se denomina BACE1-3C.35.21.

[000351] Cadena pesada que contiene una región Fab, una región bisagra y un polipéptido Fc modificado fusionados entre sí en este orden en serie de tándem. La región Fab contiene la región variable de cadena pesada de un anticuerpo de unión a BACE1. La región bisagra tiene la secuencia de SEQ ID NO:62. El polipéptido Fc tiene la secuencia de la SEQ ID NO:250 y contiene la mutación «botón» (T366W de acuerdo con el esquema de numeración EU) y las mutaciones de unión a TfR.

[000352] Cadena pesada que contiene una región Fab, una región bisagra y un polipéptido Fc modificado fusionados entre sí en este orden en serie de tándem. La región Fab contiene la región variable de cadena pesada de un anticuerpo de unión a BACE1. La región bisagra tiene la secuencia de SEQ ID NO:62. El polipéptido Fc tiene la secuencia de SEQ ID NO:251 y contiene las mutaciones «ojal» (T366S, L368A y Y407V de acuerdo con el esquema de numeración EU).

[000353] Cadena ligera que contiene la región variable de cadena ligera del anticuerpo de unión a BACE1.

[000354] Se clonó ADN codificado para los genes para expresar los tres polipéptidos que anteceden en vectores de expresión y se transfectó en células ExpiCHO (Thermo Fisher Scientific) a una relación de 1:1:2, respectivamente. Luego de 5-7 días, se recolectaron las células y se purificó el polipéptido resultante con la Proteína A seguido de HIC con métodos familiares para el experto en la técnica. Se analizó el polipéptido resultante mediante espectrometría de masa para demostrar que no hubo proteínas de fusión presentes con dímeros de polipéptidos

Fc homodiméricos (es decir, un dímero de polipéptidos Fc que tienen dos polipéptidos Fc que tienen la mutación de «botón» o un dímero de polipéptidos Fc que tiene dos polipéptidos Fc que tienen mutaciones de «ojal») luego de la purificación. Se generaron en forma análoga polipéptidos tetraméricos adicionales.

Ejemplo 2. Generación de ratones con activación del dominio apical humano (ratones con activación de TfR humano (TfR^{ms/hu} KI))

[000355] Se han publicado métodos para generar ratones con activación/inactivación en la bibliografía y son conocidos para el experto en la técnica. En resumen, se generaron ratones TfR^{ms/hu} KI mediante el uso de tecnología CRISPR/Cas9 para expresar el dominio apical *Tfrc* humano dentro del gen *Tfrc* murino; el TfR quimérico resultante se expresó in vivo bajo el control del promotor endógeno. Como se describe en la solicitud de patente internacional n.º PCT/US2018/018302, que se incorpora mediante referencia en su totalidad a la presente, se utilizaron ratones C57Bl6 para generar una activación de la línea de ratón de TfR apical humano mediante microinyección pronuclear en embriones de célula simple, seguidos de una transferencia del embrión a hembras pseudopreñadas. Específicamente, se introdujeron Cas9, ARN guía simple que tiene las secuencias de la SEQ ID NOS:264 y 265, y un ADN donante que tiene la secuencia de SEQ ID NO:267, en los embriones. El ADN donante comprendió la secuencia codificante de dominio apical humano (SEQ ID NO:266 que se optimizó por codones para la expresión en ratones). La secuencia codificante de dominio apical se flanqueó con un grupo de homología izquierdo (nucleótidos 1-817 de SEQ ID NO:267) y derecho (nucleótidos 1523-2329 de SEQ ID NO:267). La secuencia donante se diseñó de esta forma de modo que el dominio apical se debía insertar luego del cuarto exón de ratón y se flanqueó inmediatamente en el extremo 3' mediante el noveno exón de ratón. Un macho fundador de la progenie de las hembras que recibieron los embriones se reprodujo con hembras de tipo salvaje para generar ratones heterocigotas F1. Los ratones homocigotas fueron generados posteriormente a partir de la reproducción de ratones heterocigotas de generación F1.

Ejemplo 3. Los polipéptidos Fc de unión a TfR que tienen mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc previenen la disminución de reticulocitos en ratones

[000356] Los anticuerpos que se unen a TfR han demostrado que disminuyen tanto los reticulocitos en circulación como los reticulocitos en médula ósea cuando se administran a ratones (véase, por ejemplo, Couch et ál., *Sci Transl Med*, 5:183ra57, 1-12, 2013). Se generó una fusión de Fab-dímero de polipéptidos Fc análoga a BACE1-3C.35.21 descrita en el Ejemplo 1. La fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc, denominada «BACE1-3C.35.21^{2XLALA}» contiene lo siguiente: (1) una cadena pesada que contiene una región Fab que tiene una región variable de cadena pesada de un anticuerpo de unión a BACE1, una región bisagra y un polipéptido Fc modificado que tiene la mutación de «botón» (T366W de acuerdo con el esquema de numeración EU), las mutaciones que reducen la función efectora (L234A y L235A de acuerdo con el esquema de numeración EU) y las mutaciones de unión a TfR (una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:252 (clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA)); (2) una cadena ligera que contiene una región Fab que tiene una región variable de cadena pesada de un anticuerpo de unión a BACE1, una región bisagra y un polipéptido Fc modificado que tiene las mutaciones de «ojal» (T366S, L368A y Y407V de acuerdo con el esquema de numeración EU) y las mutaciones que reducen la función efectora (L234A y L235A de acuerdo con el esquema de numeración EU) (una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:253 (secuencia Fc humana con mutaciones de ojal y mutaciones LALA)); y (3) dos cadenas ligeras, donde cada una comprende una región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1.

[000357] Se generaron ratones con activación de TfR humano homocigotas (TfR^{ms/hu} KI) para evaluar las proteínas de fusión Fab-dímeros de polipéptidos Fc *in vivo*. En resumen, estos ratones se modificaron para remplazar el TfR de ratón con la proteína de TfR quimérica de ratón/dominio apical humano (ver el Ejemplo 2). Estos ratones recibieron dosis con el dímero BACE1-Fc^{2XLALAPG} (Fab anti-BACE1 fusionado a un dímero Fc con mutaciones LALA y la mutación P329G (de acuerdo con el esquema de numeración EU) en ambos polipéptidos Fc) o BACE1-3C.35.21^{2XLALA} a 25 mg/kg. Se evaluaron los reticulocitos en circulación y médula ósea 24 horas después de la dosis mediante análisis CBC y FACS, respectivamente. Se identificaron reticulocitos de médula ósea como la población Ter119⁺, hCD71^{alto} y FSC^{bajo}. De forma coherente con estudios previos, la fusión

Fab-dímero de polipéptidos Fc, denominada «BACE1-3C.35.21^{2XLALA}» no indujo la disminución de reticulocitos *in vivo* (Figuras 1A y 1B), similares a un dímero de polipéptido Fc de no unión al TfR.

Ejemplo 4. Diseño de polipéptidos Fc de unión a TfR que tienen mutaciones LALA asimétricas

[000358] TfR se expresa mucho en reticulocitos, que son glóbulos rojos inmaduros presentes tanto en médula ósea como en la circulación. Se demostró anteriormente que los anticuerpos TfR con función efectora total pueden disminuir rápidamente los reticulocitos tanto en sangre como en médula ósea. Por lo tanto, la disminución de reticulocitos es una gran responsabilidad de seguridad para la sustancias terapéuticas de anticuerpos con base de TfR. Sin embargo, la eliminación total de la función efectora en anticuerpos con base de TfR no es una solución adecuada ya que en algunos casos sería deseable tener una función efectora activada por la unión a Fab, pero no tras la unión a TfR con una región Fc de unión a TfR modificada, fusionada a un Fab terapéutico. Debido a que las mutaciones Fc tales como L234A y L235A (LALA) de acuerdo con el esquema de numeración EU reducen la unión de FcγR al dímero de polipéptidos Fc, los dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR modificados, fusionados a Fab que contienen tales mutaciones en ambos polipéptidos Fc del dímero de polipéptidos Fc no pueden provocar la función efectora, con unión a TfR o Fab unido a una diana.

[000359] Es deseable un dímero de polipéptidos Fc de unión a TfR fusionado a un Fab terapéutico que pueda provocar la función efectora cuando el Fab se une a su diana, pero no cuando el sitio de unión a TfR se une a TfR. Con este fin, se desarrollaron dímeros de polipéptidos Fc en los que uno de los dos polipéptidos Fc (pero no el otro) que contiene mutaciones que reduce la unión a FcγR cuando se une a TfR. Se generó una serie de dímeros de polipéptidos Fc de unión a TfR que contenían mutaciones LALA en uno, ambos o ninguno de los polipéptidos Fc, fusionados a las regiones Fab de unión al antígeno que se unen a BACE1, CD20 humano (hCD20) o CD20 de ratón (mCD20) tal como se describe en las Tablas 1 y 2 a continuación. La Tabla 1 describe las mutaciones en la región Fc de cada una de las dos cadenas pesadas. En todas las variantes descritas en la Tabla 1, la cadena pesada 1 contiene el sitio de unión a TfR y la mutación de botón T366W (de acuerdo con el esquema de numeración EU) en la región Fc y la cadena pesada

2 contiene las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V (de acuerdo con el esquema de numeración EU) en la región Fc. La variante zz-3C.35.21 no contiene ninguna mutación adicional en las regiones Fc; la variante zz-3C.35.21^{2xLALA} contiene las mutaciones LALA en ambas regiones Fc de las cadenas pesadas 1 y 2; la variante zz-3C.35.21^{cisLALA} contiene las mutaciones LALA en la misma región Fc que una que también contiene el sitio de unión a TfR (la configuración cis o cisLALA); la variante zz-3C.35.21^{transLALA} contiene las mutaciones LALA en la región Fc que no contiene el sitio de unión a TfR (configuración trans o transLALA). Lo mismo aplica para la variante zz-3C.35.23, la variante zz-3C.35.23^{2xLALA}, la variante zz-3C.35.23^{cisLALA}, y la variante zz-3C.35.23^{transLALA}.

[000360] La Tabla 2 enumera la SEQ ID NO para cada cadena pesada y cadena ligera de cada fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc. Por ejemplo, BACE1-3C.35.21^{2xLALA} contiene la variante zz-3C.35.21^{2xLALA} descrita en la Tabla 1 y la región Fab que se dirige a BACE1.

Tabla 1. Mutaciones de la función efectora en polipéptidos Fc

Nombre de variante	Cadena pesada 1: Fc de unión a TfR (botón)	Cadena pesada 2: Fc (ojal)
zz-3C.35.21	Ninguna	Ninguna
zz-3C.35.21 ^{2xLALA}	LALA	LALA
zz-3C.35.21 ^{cisLALA}	LALA	Ninguna
zz-3C.35.21 ^{transLALA}	Ninguna	LALA
zz-3C.35.23	Ninguna	Ninguna
zz-3C.35.23 ^{2xLALA}	LALA	LALA
zz-3C.35.23 ^{cisLALA}	LALA	Ninguna
zz-3C.35.23 ^{transLALA}	Ninguna	LALA

Tabla 2. SEQ ID NOS para fusiones Fab-dímero de polipéptidos Fc

	Cadena pesada 1	Cadena ligera 1	Cadena pesada 2	Cadena ligera 2
BACE1-3C.35.21	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a

	Cadena pesada 1	Cadena ligera 1	Cadena pesada 2	Cadena ligera 2
	ID NO:250	BACE1	ID NO:251	BACE1
BACE1-3C.35.21 ^{2xLALA}	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:252	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:253	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
BACE1-3C.35.21 ^{cisLALA}	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:252	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:251	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
BACE1-3C.35.21 ^{transLALA}	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:250	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:253	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
hCD20-3C.35.21	SEQ ID NO:254	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:256	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.21 ^{2xLALA}	SEQ ID NO:255	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:257	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.21 ^{cisLALA}	SEQ ID NO:255	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:257	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.21 ^{transLALA}	SEQ ID NO:254	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:256	SEQ ID NO:258
mCD20-3C.35.21	SEQ ID NO:259	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:261	SEQ ID NO:263
mCD20-3C.35.21 ^{2xLALA}	SEQ ID NO:260	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:262	SEQ ID NO:263
mCD20-3C.35.21 ^{cisLALA}	SEQ ID NO:260	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:261	SEQ ID NO:263
BACE1-3C.35.23	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:237	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:251	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
BACE1-	una región Fab	región	una región Fab	región

	Cadena pesada 1	Cadena ligera 1	Cadena pesada 2	Cadena ligera 2
3C.35.23 ^{2xLALA}	anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:238	variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:253	variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
BACE1-3C.35.23 ^{cisLALA}	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:238	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:251	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
BACE1-3C.35.23 ^{transLALA}	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:237	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1	una región Fab anti-BACE1 fusionada a la región bisagra (SEQ ID NO:62) y SEQ ID NO:253	región variable de cadena ligera de un anticuerpo de unión a BACE1
hCD20-3C.35.23	SEQ ID NO:410	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:256	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.23 ^{2xLALA}	SEQ ID NO:NO:411	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:257	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.23 ^{cisLALA}	SEQ ID NO:NO:411	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:257	SEQ ID NO:258
hCD20-3C.35.23 ^{transLALA}	SEQ ID NO:410	SEQ ID NO:258	SEQ ID NO:256	SEQ ID NO:258
mCD20-3C.35.23	SEQ ID NO:412	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:261	SEQ ID NO:263
mCD20-3C.35.23 ^{2xLALA}	SEQ ID NO:413	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:262	SEQ ID NO:263
mCD20-3C.35.23 ^{cisLALA}	SEQ ID NO:413	SEQ ID NO:263	SEQ ID NO:261	SEQ ID NO:263

Ejemplo 5. Polipéptidos de unión a TfR que tienen configuración cis atenúan la disminución de reticulocitos en ratones

[000361] Para determinar si un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis o la configuración trans puede atenuar la disminución de reticulocitos, tratamos ratones con activación de TfR humano homocigotas (TfR^{ms/hu} KI) con estos dímeros de polipéptidos Fc, así como la contraparte de IgG humana (hIgG)

de tipo salvaje y se analizaron los reticulocitos tanto de sangre periférica como de médula ósea en estos animales. Se cuantificaron los reticulocitos en circulación a partir de sangre periférica usando el sistema de hematología Advia 120. En resumen, se tiñeron células con el reactivo ADVIA autoRETIC y se identificaron los reticulocitos según el contenido de ARN y absorción de luz diferencial. Para los reticulocitos de médula ósea, se recolectaron las células de médula ósea del fémur de cada animal, se bloquearon con bloqueador de Fc (CD16/CD32 antirrátón), se tiñeron con anti-mTer119 y anti-hCD71 y se analizaron con clasificación celular activada por fluorescencia (FACS). Se seleccionaron los reticulocitos como las poblaciones mTer119⁺, hCD71^{alto} y FSC^{bajo} con el uso del software de análisis FlowJo. Tras el análisis, el dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis (es decir, solamente un polipéptido Fc contiene el sitio de unión a TfR y las mutaciones LALA, mientras que el otro polipéptido Fc no contiene ninguno del sitio de unión a TfR ni las mutaciones LALA) mitigó la pérdida de reticulocitos tanto en sangre como en médula ósea que se observó de otro modo en el testigo con hIgG de tipo salvaje y el dímero de polipéptidos Fc con la configuración trans (es decir, un polipéptido Fc contiene el sitio de unión a TfR y el otro polipéptido Fc contiene las mutaciones LALA). Extraordinariamente, el dímero de polipéptidos Fc con la configuración cis a 25 mg/kg no posee la mayor responsabilidad de seguridad que se observa normalmente en los polipéptidos de unión a TfR con la función efectora (Figuras 2A y 2B). Además, se estresó el sistema con una dosis mayor a 50 mg/kg, con un polipéptido de unión a TfR con una afinidad por TfR menor. Si bien la configuración cis atenuó parcialmente la pérdida de reticulocitos en sangre, la pérdida de reticulocitos en médula ósea, que refleja más la seguridad clínica, se dejó (Figuras 2C y 2D). Por otra parte, el dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración trans disminuyó los reticulocitos en sangre y médula ósea en una magnitud similar que el testigo de IgG de tipo salvaje. Estos resultados demuestran que el dímero de polipéptidos Fc con la configuración cis puede mitigar la pérdida de reticulocitos *in vivo*.

Ejemplo 6. Los polipéptidos de unión a TfR que tienen la configuración cis atenúan la actividad ADCC mediada por TfR *In Vitro*

[000362] Se determinó que la carencia de pérdida de reticulocitos *in vivo* por el dímero de polipéptidos Fc con la configuración cis se debe a la incapacidad de

generar ADCC mediada por TfR. Las células de Ramos, que expresan niveles elevados de TfR humano, se usaron como células diana en un ensayo de ADCC *in vitro*. Se colocaron en placas las células diana a 10.000 células/pocillo y se opsonizaron con (1) hIgG1 con el sitio de unión a TfR, (2) hIgG1 con el sitio de unión a TfR y con las mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc y (3) hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis durante 30 minutos. Se aislaron los linfocitos citolíticos naturales (NK) de la sangre periférica humana, se incubaron durante la noche con IL-21 (20 ng/mL) y se incubaron con células diana a una relación de 25:1 de células efectoras:diana (250.000 células/pocillo) durante 4h. Se evaluó la citotoxicidad mediante expresión LDH, se normalizó al testigo sin ningún polipéptido y se calculó como el porcentaje de lisis máxima en las células diana. Debido a que las células inmunitarias efectoras, en este caso los linfocitos citolíticos naturales, expresan FcγRs, la parte Fc de una IgG1 de tipo salvaje se uniría a FcγR y activaría una respuesta ADCC. Ciertamente, la hIgG1 con sitio de unión a TfR provocó una fuerte respuesta de ADCC, mientras que tanto la hIgG1 con mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc como la hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc con la configuración cis no lo hicieron. Este dato es coherente con los datos de reticulocitos *in vivo*: el dímero de polipéptidos Fc con la configuración cis y el dímero de polipéptidos Fc con el sitio de unión a TfR y las mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc (a dos afinidades por TfR diferentes: Figura 3A: CH3C.35.21; Figura 3B: CH3C.35.23) impiden la ADCC mediada por TfR y por tanto mitigan la eliminación de reticulocitos.

Ejemplo 7. Los polipéptidos de unión a TfR impiden la actividad CDC *In Vitro* mediada por TfR

[000363] La pérdida de reticulocitos *in vivo* mediante anticuerpos que se unen a TfR también se pueden contribuir mediante CDC mediada por TfR. Resulta interesante que el dímero de polipéptidos Fc que se une a TfR no puede provocar la CDC, probablemente debido a su incapacidad de formar en forma estérica hexámeros de polipéptidos para activar una respuesta complementaria. Las células CHO que se modificaron para sobreexpresar TfR (CHO-hTfR) se colocaron en placas a 200.000 células/pocillo en un medio sin suero. Se opsonizaron las células con (1) hIgG testigo, (2) Ab204 (un anticuerpo testigo positivo anti-TfR) y (3) hIgG1 con

un sitio de unión a TfR durante 30 minutos. 50 μ L de suero de gazapo diluido se agregaron a cada pocillo y se incubaron las células durante 4h. Se evaluó la citotoxicidad mediante expresión LDH, se normalizó al testigo sin ningún polipéptido y se calculó como el porcentaje de lisis máxima en las células diana. Ciertamente, si bien Ab204 anti-TfR pudo inducir CDC en células CHO-hTfR, hIgG1 con el sitio de unión a TfR en la región Fc no tuvo efecto en la CDC (Figura 4).

Ejemplo 8. Los polipéptidos de unión a TfR que tienen la configuración cis estimulan la actividad pSyk en microglías primarias humanas

[000364] Se confirmó que el dímero de polipéptidos Fc modificado tiene un Fc funcional como se determinó por la actividad de la tirosina cinasa del bazo fosforilada (pSYK) e inducida por Fc γ R, usando células microgliales primarias humanas. Los Fc γ R en las células inmunitarias efectoras normalmente se unen a la región Fc de un anticuerpo para activar una cantidad de respuestas importantes para la inmunidad innata. Una de esas respuestas incluye la vía de señalización de la tirosina cinasa Syk, que juega un papel fundamental en la activación de células inmunitarias tal como la fagocitosis, la liberación de citocina y ADCC (DeFranco et ál., *J. of Exp Med.*, 1997, 186(7):1027-39). Cuando los Fc γ R de una célula inmunitaria se unen a un complejo inmunitario, el motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM, por sus siglas en inglés) permite que se capte la cinasa Syk y se fosforila mediante la familia de cinasas Src, que produce las vías de señalización posterior que activan la activación de la célula inmunitaria (Hirose et ál., *J of Biol Chem*, 2004, 279:32308-15). Por lo tanto, pSyk se usa como lectura para la activación de células inmunitarias inducidas por Fc γ R. Las células microgliales de un cultivo glial mixto derivadas de tejido fetal humano se recolectaron y se usaron para evaluar la actividad de pSyk en células microgliales humanas tras unirse a los polipéptidos de unión a TfR. Luego se agregaron microglías en una placa de 96 pocillos recubierta con polipéptidos de unión a TfR, se incubó a 37 °C durante 10 min, se lisó y se cuantificó para los niveles de pSyk con un inmunoensayo tipo sándwich pSyk. Si bien la mutación cis-LALA no generó ADCC mediada por TfR, puede generar una respuesta de pSyk en las células microgliales humanas similar al péptido IgG de tipo salvaje (un aumento de alrededor de 3 veces respecto al testigo de la mutación LALA,

Figura 5). Este resultado demuestra que el dímero de polipéptidos Fc modificado que tiene la configuración cis conserva su función Fc y podría tener función efectora.

Ejemplo 9. Los polipéptidos de unión a TfR que tienen la configuración cis generan CDC y ADCC mediada por Fab en células diana

[000365] Además de la inducción de la actividad pSYK, se evaluó la capacidad de los polipéptidos de unión a TfR con la configuración cis para generar CDC y ADCC mediadas por Fab. Las células diana que expresan CD20 de ratón (línea celular A20) se usaron para evaluar la ADCC mediada por Fab. De manera similar a la ADCC mediada por TfR que se describe en el Ejemplo 8, se colocaron en placas las células diana a 10.000 células/pocillo, se opsonizaron, se incubaron con células NK a una relación de 25:1 células efectoras:diana y se evaluó para determinar la citotoxicidad mediante expresión LDH. Se opsonizaron las células diana con (1) una hIgG testigo, (2) un anticuerpo anti-mCD20, (3) una hIgG1 con sitio de unión a TfR y sitio de unión a Fab mCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (WT)) y (4) una hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (cis-LALA)). El ensayo se diseñó para evaluar solamente la unión a Fab ya que las células diana no expresan TfR humano. De forma coherente con la inducción de la activación de pSYK, la hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 generó una ADCC similar al anticuerpo anti-mCD20 y la hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab mCD20 (Figura 6A).

[000366] Además de ADCC, se evaluó la CDC. Anteriormente las células de Raji han demostrado que son sensibles en CDC mediada por anti-hCD20; por lo tanto, se usaron como células diana para evaluar la hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab hCD20. Se colocaron las células de Raji a 200.000 células/pocillo en un medio sin suero y se opsonizaron con (1) hIgG testigo, (2) anticuerpo anti-hCD20, (3) hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab hCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -hCD20 (WT)) y (4) hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab hCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -hCD20 (cis-LALA)) durante 30 minutos. Se agregaron 50 μ L de suero de gazapo a cada pocillo y se incubaron las células durante 4h. Se

evaluó la citotoxicidad mediante expresión LDH, se normalizó al testigo sin ningún polipéptido y se calculó como el porcentaje de lisis máxima en las células diana. De forma similar a la ADCC mediada por Fab, la hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab hCD20 generó CDC al mismo nivel que anti-hCD20 y hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab hCD20 (Figura 6B). En conjunto, estos ensayos de citotoxicidad *in vitro* demuestran que hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis no interfiere con su capacidad de generar una función efectora mediada por Fab.

Ejemplo 10. Los polipéptidos de unión a TfR que tienen la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 provocan la función efectora *In Vivo*

[000367] Tal como se demuestra en el análisis de seguridad *in vivo*, hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis mitigó la pérdida de reticulocitos tras la unión a TfR. Luego analizamos si esta configuración podría provocar la función efectora mediada por Fab *in vivo*, que es esencial para inducir una respuesta terapéutica. Los anticuerpos contra mCD20 han demostrado anteriormente que disminuyen totalmente los linfocitos B esplénicos y periféricos *in vivo* y por lo tanto se han utilizado para evaluar la función efectora mediada por Fab. La capacidad de hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 para disminuir los linfocitos B esplénicos y en sangre se evaluó en ratones WT y se comparó con la respuesta observada en el anticuerpo anti-mCD20 y hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab mCD20. Los ratones WT fueron tratados a 25 mg/kg con (1) IgG testigo, (2) anticuerpo anti-mCD20, (3) hIgG1 con el sitio de unión a TfR y Fab mCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (WT)), (4) hIgG1 con el sitio de unión a TfR y con las mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc y el sitio de unión a Fab mCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (LALA)) y (5) hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (cis-LALA)). Se evaluaron los linfocitos B periféricos y los linfocitos B esplénicos maduros en el día 1 y el día 5, respectivamente. En resumen, se recolectaron sangre periférica y bazo. Se trataron las células de sangre periférica y los esplenocitos con amortiguador de lisis ACK, se incubaron con bloqueador de Fc y se tiñeron con anti-B220 y anti-IgM. Se

identificaron los linfocitos B maduros como la población B220^{alto}IgM^{alto} tras análisis FACS. De forma coherente con los análisis de ADCC y CDC *in vitro* mediados por Fab, hIgG1 con un dímero de polipéptidos Fc que tiene la configuración cis y el sitio de unión a Fab mCD20 generó una fuerte disminución de linfocitos B similar al anticuerpo anti-mCD20 y hIgG1 con el sitio de unión a TfR y el sitio de unión a Fab mCD20 (Figuras 7A y 7B). Estos resultados demuestran que el dímero de polipéptidos Fc modificado que tiene la configuración cis conserva su función Fc y tiene la función efectora mediada por Fab *in vivo*.

Ejemplo 11. Polipéptidos Fc modificados que se unen a TfR

[000368] El presente ejemplo describe las modificaciones a los polipéptidos Fc para conferir la unión a TfR y el transporte a través de la BHE.

[000369] A menos que se indique lo contrario, las posiciones de los residuos de aminoácidos en esta sección se numeran en función de la numeración del índice EU para una región Fc de tipo salvaje de IgG1 humana.

Generación y caracterización de polipéptidos Fc que comprenden modificaciones en las posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421 (clones CH3C)

[000370] Se generaron bibliotecas de levadura que contienen regiones Fc que tienen modificaciones introducidas en posiciones que incluyen las posiciones de aminoácidos 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421 como se describe a continuación. Los clones ilustrativos que se unen a TfR se muestran en las Tablas 3 y 4.

[000371] Luego de dos rondas adicionales de clasificación, se secuenciaron clones simples y se identificaron cuatro secuencias únicas. Estas secuencias tuvieron un Trp conservado en la posición 388 y todas tuvieron un residuo aromático (es decir, Trp, Tyr o His) en la posición 421. Existe una gran cantidad de diversidad en otras posiciones.

[000372] Los cuatro clones seleccionados de la biblioteca se expresaron como fusiones de Fc a fragmentos Fab en células CHO o 293, purificadas por proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño, y luego se analizaron para determinar la unión a TfR humano en presencia o ausencia de holo-Tf mediante ELISA. Los clones se unieron a TfR humano y la unión no fue afectada por la adición de un exceso de holo-Tf (5 μ M). Los clones también se evaluaron para determinar la unión a células 293F, que expresaron TfR humano de forma endógena. Los clones

se unieron a células 293F, aunque la unión general fue considerablemente más débil que el testigo positivo de alta afinidad.

[000373] Luego, se evaluó si los clones podrían internalizarse en células de expresión de TfR con el uso del clon CH3C.3 como clon de prueba. Las células HEK 293 adherentes se cultivaron en placas de 96 pocillos hasta alrededor de 80 % de confluencia, se eliminó el medio y las muestras se agregaron en concentraciones de 1 μ M: el clon CH3C.3, el anticuerpo testigo positivo de referencia anti-TfR (Ab204), el anticuerpo testigo negativo de referencia anti-BACE1 (AB107) y el testigo de isotipo de IgG humana (obtenido de Jackson ImmunoResearch). Las células se incubaron a 37 °C y a una concentración de CO₂ al 8 % durante 30 minutos, luego se lavaron, se permeabilizaron con Triton™ X-100 al 0,1 % y se tiñó con un anticuerpo secundario Alexa Fluor® 488-anti-humano-IgG. Luego del lavado adicional, las células se sometieron a imagenología bajo un microscopio de fluorescencia de alto contenido (es decir, un sistema Opera Phenix™) y se cuantificó la cantidad de puntos por célula. A 1 μ M, el clon CH3C.3 mostró una propensión similar para la internalización con respecto al testigo anti-TfR positivo, mientras que los testigos negativos no mostraron internalización.

Modificación adicional de clones

[000374] Se generaron bibliotecas adicionales para mejorar la afinidad de los resultados iniciales con respecto al TfR humano mediante un enfoque de aleatorización leve, donde se generaron oligos de ADN para introducir una mutagénesis leve en función de cada uno de los cuatro resultados originales. Se identificaron clones adicionales que se unieron a TfR y se seleccionaron. Los clones seleccionados se clasificaron en dos grupos de secuencias generales. Los clones del Grupo 1 (es decir, clones CH3C.18, CH3C.21, CH3C.25 y CH3C.34) tuvieron una Leu semiconservada en la posición 384, una Leu o His en la posición 386, una Val conservada y semiconservada en las posiciones 387 y 389, respectivamente y un motivo P-T-W semiconservado en las posiciones 413, 416 y 421, respectivamente. Los clones del Grupo 2 tuvieron un Tyr conservado en la posición 384, el motivo TXWSX en las posiciones 386-390 y el motivo conservado S/T-E-F en las posiciones 413, 416 y 421, respectivamente. Los clones CH3C.18 y CH3C.35 se utilizaron en estudios adicionales como miembros representativos de cada grupo de secuencias.

Mapeo de epítomos

[000375] Para determinar si las regiones Fc modificadas se unieron al dominio apical de TfR, el dominio apical de TfR se expresó en la superficie del fago. Para plegar y expresar adecuadamente el dominio apical, uno de los bucles tuvo que ser truncado y fue necesario permutar circularmente la secuencia. Los clones CH3C.18 y CH3C.35 se recubrieron en placas ELISA y se siguió un protocolo ELISA para fagos. Brevemente, luego de lavar y bloquear con PBSA al 1 %, se agregaron las diluciones de expresión en fagos y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron posteriormente y se agregó anti-M13-HRP, y luego del lavado adicional de placas se desarrollaron con un sustrato de TMB y se inactivaron con H₂SO₄ 2 N. Ambos clones CH3C.18 y CH3C.35 se unieron al dominio apical en este ensayo.

Mapeo de parátomos

[000376] Para entender cuáles residuos en el dominio Fc fueron más importantes para la unión a TfR, se creó una serie de regiones Fc mutantes del clon CH3C.18 y el clon CH3C.35 en las que cada mutante tuvo una posición única en el registro de unión al TfR retromutada al tipo salvaje. Las variantes resultantes se expresaron de forma recombinante como fusiones Fab-Fc y se evaluaron para la unión a TfR humano o de cyno. Para el clon CH3C.35, las posiciones 388 y 421 fueron importantes para la unión; la reversión de cualquiera de estos al tipo salvaje extirpó totalmente la unión a TfR humano.

Caracterización de la unión de clones maduros

[000377] Se llevaron a cabo ELISA de unión con variantes de fusión Fab-Fc purificadas con TfR humano o de cyno con el que se recubrió la placa, como se describe anteriormente. Las variantes de la biblioteca de maduración del clon CH3C.18, el clon CH3C.3.2-1, el clon CH3C.3.2-5 y el clon CH3C.3.2-19, se unieron a TfR humano y cyno con valores EC₅₀ aproximadamente equivalentes, mientras que los clones CH3C.18 y CH3C.35 originales tuvieron una unión a TfR humano con respecto a cyno más de 10 veces mejor.

[000378] Luego, se evaluó si los polipéptidos Fc modificados se internalizaron en células humanas y de mono. Mediante el protocolo descrito anteriormente, se evaluó la internalización de células HEK 293 humanas y células LLC-MK2 de rhesus. Las variantes que se unieron de forma similar a TfR humano y de cyno, los clones CH3C.3.2-5 y CH3C.3.2-19, tuvieron una internalización

significativamente mejorada en células LLC-MK2 en comparación con el clon CH3C.35.

Modificación adicional de clones

[000379] La modificación adicional a los clones madurados por afinidad adicionales CH3C.18 y CH3C.35 implicó la adición de mutaciones adicionales a las posiciones que potenciaron la unión a través de las interacciones directas, interacciones de segunda cubierta o estabilización de estructuras. Esto se logró mediante la generación y selección de una biblioteca de «recorrido de NNK» o «parche de NNK». La biblioteca de recorrido de NNK implicó realizar mutaciones NNK de los residuos uno por uno que se encuentran cerca del parátopo. Al observar la estructura de Fc unido a FcγRI (PDB ID: 4W4O), se identificaron 44 residuos cerca de las posiciones originales como candidatos para la interrogación. Específicamente, se dirigieron los residuos a continuación para la mutagénesis de NNK: K248, R255, Q342, R344, E345, Q347, T359, K360, N361, Q362, S364, K370, E380, E382, S383, G385, Y391, K392, T393, D399, S400, D401, S403, K409, L410, T411, V412, K414, S415, Q418, Q419, G420, V422, F423, S424, S426, Q438, S440, S442, L443, S444, P4458, G446 y K447. Se generaron las 44 bibliotecas de NNK de punto único mediante la mutagénesis Kunkel, y los productos se agruparon e introdujeron en levadura mediante electroporación, como se describió anteriormente para otras bibliotecas de levadura.

[000380] La combinación de estas minibibliotecas (cada una tuvo una posición mutada que tuvo como resultado 20 variantes) generó una biblioteca pequeña que se seleccionó con expresión de superficie de levadura para cualquier posición que condujo a una unión con afinidad mayor. Se llevaron a cabo selecciones como se describió anteriormente, con el uso de proteínas del dominio apical de TfR. Luego de tres rondas de clasificación, los clones de la biblioteca de levadura enriquecida se sometieron a secuenciación y se identificaron posiciones «clave» donde determinadas mutaciones puntuales mejoraron significativamente la unión a las proteínas del dominio apical. Para el clon CH3C.35, estas mutaciones incluyeron E380 (mutó a Trp, Tyr, Leu o Gln) y S415 (mutó a Glu). Las secuencias de los mutantes simples y de combinación del clon CH3C.35 se establecen en las SEQ ID NOS:21-23, 64-69 y 125-127. Para el clon CH3C.18, estas mutaciones incluyeron E380 (mutó a Trp, Tyr o Leu) y K392 (mutó a Gln, Phe o His). Las secuencias de los mutantes simples del clon CH3C.18 se establecen en las SEQ

ID NOS:70-75.

Bibliotecas de maduración adicionales para mejorar la afinidad del clon

CH3C.35

[000381] Se generó una biblioteca adicional para identificar combinaciones de mutaciones a partir de la biblioteca de recorrido de NNK, mientras que se agregan diversas posiciones adicionales en la periferia de estas, como se describe para bibliotecas de levadura anteriores. En esta biblioteca, los motivos YxTEWSS (SEQ ID NO:414) y TxxExxxxF (SEQ ID NO:415) se mantuvieron constantes y aleatorizaron completamente seis posiciones: E380, K392, K414, S415, S424 y S426. Se incluyeron las posiciones E380 y S415 dado que fueron «clave» en la biblioteca de recorrido de NNK. Se incluyeron las posiciones K392, S424 y S426 dado que forman parte del núcleo que puede posicionar la región de unión, mientras que se seleccionó K414 debido a su adyacencia a la posición 415.

[000382] Esta biblioteca se clasificó, como se describió previamente, solamente con el dominio apical de TfR de cyno. El grupo enriquecido se sometió a secuenciación luego de cinco rondas y las secuencias de las regiones modificadas de los clones únicos identificados se establecen en las SEQ ID NOS:76-93.

[000383] Se diseñaron las siguientes bibliotecas para explorar adicionalmente la diversidad aceptable en el parátipo de unión. Cada una de las posiciones originales (384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421) más las dos posiciones clave (380 y 415) se aleatorizaron individualmente con codones de NNK para generar una serie de bibliotecas de mutagénesis por saturación de posición única en levadura. Además, cada posición se reversionó individualmente al residuo de tipo salvaje y estos clones individuales fueron expresados en la levadura. Se observó que las posiciones 380, 389, 390 y 415 fueron las únicas posiciones que retuvieron la unión considerable a TfR luego de la reversión al residuo de tipo salvaje (se observó algo de unión residual, pero ampliamente disminuida para la reversión de 413 al tipo salvaje).

[000384] Se clasificaron bibliotecas de NNK de posición única para tres rondas con respecto al dominio apical de TfR para recolectar el ~5 % superior de aglutinantes y luego se secuenciaron al menos 16 clones de cada biblioteca. Los resultados indican cuáles aminoácidos en cada posición pueden ser tolerados sin reducir significativamente la unión a TfR humano, en el contexto del clon CH3C.35. Se presenta un resumen a continuación:

Posición 380: Trp, Leu o Glu;

Posición 384: Tyr o Phe;

Posición 386: Thr solamente;

Posición 387: Glu solamente;

Posición 388: Trp solamente;

Posición 389: Ser, Ala o Val (aunque el residuo de Asn de tipo salvaje parece conservar algo de unión, no apareció luego de la clasificación de la biblioteca),

Posición 390: Ser o Asn;

Posición 413: Thr o Ser;

Posición 415: Glu o Ser;

Posición 416: Glu solamente; y

Posición 421: Phe solamente.

[000385] Los residuos anteriores, cuando se sustituyen en el clon CH3C.35 como cambios únicos o en combinaciones representan una diversidad de parátomos que conserva la unión al dominio apical de TfR. Los clones que tienen mutaciones en estas posiciones incluyen los mostrados en la Tabla 4 y las secuencias de los dominios CH3 de estos clones se establecen en las SEQ ID NOs:65-69, 92, 94-124 y 268-274.

Ejemplo 12. Métodos

Generación de bibliotecas de expresión en fagos

[000386] Se sintetizó una plantilla de ADN para codificar la secuencia de Fc humana de tipo salvaje y se incorporó en un vector fagémido. El vector fagémido contuvo una secuencia líder ompA o pelB, la inserción de Fc se fusionó a etiquetas de epítipo c-Myc y 6xHis (SEQ ID NO:421) y un codón de terminación ámbar seguido de una proteína pIII de recubrimiento M13.

[000387] Se generaron cebadores que contienen tricodones «NNK» en las posiciones deseadas para las modificaciones, donde N es cualquier base de ADN (es decir, A, C, G o T) y K es G o T. Alternativamente, se utilizaron cebadores para una aleatorización «leve», donde se utilizó una mezcla de bases correspondiente al 70 % de bases de tipo salvaje y 10 % de cada una de las otras tres bases para cada posición de aleatorización. Se generaron bibliotecas mediante amplificación por PCR de fragmentos de la región Fc correspondientes a las regiones de aleatorización y luego se ensamblaron mediante el uso de cebadores de terminación que contuvieron sitios de restricción *Sfi*I, luego se digirieron con

*Sfi*I y se ligaron a vectores fagémidos. Alternativamente, se utilizaron cebadores para llevar a cabo mutagénesis de Kunkel. Los productos ligados o productos de Kunkel se transformaron en células *E. coli* electrocompetentes de la cepa TG1 (obtenidas de Lucigen®). Las células de *E. coli* se infectaron con un fago auxiliar M13K07 luego de la recuperación y se cultivaron durante la noche, luego de lo cual se precipitaron los fagos de la biblioteca con 5 % de PEG/NaCl, se resuspendieron en 15 % de glicerol en PBS y se congelaron hasta el uso. Los tamaños de biblioteca típicos variaron de alrededor de 10^9 a alrededor de 10^{11} de transformantes. Se expresaron dímeros Fc en el fago mediante el emparejamiento entre el Fc fusionado a pIII y el Fc soluble no unido a pIII (este último se generó debido al codón de terminación ámbar antes de pIII).

Generación de bibliotecas de expresión en levaduras

[000388] Se sintetizó una plantilla de ADN para codificar la secuencia Fc humana de tipo salvaje y se incorporó en un vector de expresión de levadura. Para las bibliotecas de CH2 y CH3, los polipéptidos Fc se expresaron en la proteína de la pared celular de Aga2p. Ambos vectores contuvieron péptidos líder prepro con una secuencia de escisión Kex2 y una etiqueta de epítipo c-Myc fusionada al extremo del Fc.

[000389] Se ensamblaron las bibliotecas de expresión de levadura con métodos similares a los descritos para las bibliotecas de fagos, salvo que la amplificación de fragmentos se llevó a cabo con cebadores que contienen extremos homólogos para el vector. Se sometió a electroporación levadura electrocompetente recién preparada (es decir, cepa EBY100) con un vector linealizado y se ensamblaron las inserciones de biblioteca. Los métodos de electroporación serán conocidos para el experto en la técnica. Luego de la recuperación en el medio SD-CAA selectivo, se cultivó la levadura hasta confluencia y se separó dos veces, luego se indujo para determinar la expresión de proteínas mediante la transferencia a un medio SG-CAA. Los tamaños de biblioteca típicos variaron de alrededor de 10^7 a alrededor de 10^9 de transformantes. Se formaron dímeros Fc mediante el emparejamiento de monómeros Fc expresados de forma adyacente.

Métodos generales para la selección de fagos

[000390] Los métodos de fagos se adaptaron de Phage Display: A Laboratory Manual (Barbas, 2001). Pueden obtenerse detalles del protocolo adicionales a partir de esta referencia.

Métodos de clasificación de placas

[000391] Se recubrió TfR diana humano en placas de microtitulación MaxiSorp® (normalmente 200 µL a 1-10 µg/mL en PBS) durante la noche a 4 °C. Toda la unión se llevó a cabo a temperatura ambiente a menos que se especifique de otro modo. Se agregaron bibliotecas de fagos en cada pocillo y se incubó durante la noche para la unión. Se lavaron los pocillos de microtitulación de forma exhaustiva con PBS con Tween® 20 al 0,05 % (PBST) y los fagos unidos se eluyeron mediante la incubación de los pocillos con ácido (normalmente HCl 50 mM con KCl 500 mM, o glicina 100 mM, pH 2,7) durante 30 minutos. Se neutralizaron los fagos eluidos con Tris 1 M (pH 8) y se amplificaron con el uso de células TG1 y fago auxiliar M13/KO7 y se cultivaron durante la noche a 37 °C en un medio 2YT que contiene carbenacilina 50 µg/mL y kanamicina 50 µg/mL. Las titulaciones de fagos eluidos de un pocillo que contenía la diana se compararon con las titulaciones de fagos recuperados de un pocillo que no contenía la diana para evaluar el enriquecimiento. Se aumentó la rigurosidad de selección mediante una disminución posterior del tiempo de incubación durante la unión y un aumento del tiempo de lavado y cantidad de lavados.

Métodos de clasificación de perlas

[000392] El antígeno se biotiniló a través de aminos libres mediante el uso de NHS-PEG4-Biotin (obtenidas de Pierce™). Para las reacciones de biotinilación, se utilizó un reactivo de biotina con exceso molar de 3 a 5 veces en PBS. Las reacciones se inactivaron con Tris luego de diálisis extensiva en PBS. Se inmovilizó el antígeno biotinilado en perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina (es decir, perlas de estreptavidina M280 obtenidas de Thermo Fisher). Las bibliotecas de expresión de fagos se incubaron con las perlas recubiertas con el antígeno a temperatura ambiente durante 1 hora. El fago no unido se retiró luego y las perlas se lavaron con PBST. El fago unido se eluyó mediante incubación con HCl 50 mM con KCl 500 mM (o glicina 0,1 M, pH 2,7) durante 30 minutos y luego se naturalizó y se propagó como se describió anteriormente para la clasificación de placas.

[000393] Luego de tres a cinco rondas de cribado, se analizaron clones simples mediante la expresión de Fc en fagos o de forma soluble en el periplasma de *E. coli*. Dichos métodos de expresión serán conocidos para el experto en la técnica. Los sobrenadantes de fago individuales o extractos periplásmicos se expusieron a

placas ELISA bloqueadas recubiertas con antígeno o un testigo negativo y se detectaron posteriormente con anti-Fc de cabra conjugada mediante HRP (obtenida de Jackson ImmunoResearch) para los extractos periplásmicos o anti-M13 (GE Healthcare) para el fago, y luego se desarrollaron con un reactivo TMB (obtenido de Thermo Fisher). Los pocillos con valores de OD₄₅₀ mayores a alrededor de 5 veces el fondo se consideraron clones positivos y se secuenciaron, luego de lo cual algunos clones se expresaron como un fragmento Fc soluble o se fusionaron a fragmentos Fab.

Métodos generales para la selección de levadura

Métodos de clasificación de perlas (clasificación de células activadas por magnetismo (MACS, por sus siglas en inglés))

[000394] Se llevaron a cabo selecciones de MACS y FACS de forma similar a las descritas en Ackerman, *et ál.* 2009 *Biotechnol. Prog.* 25(3), 774. Se etiquetaron perlas magnéticas de estreptavidina (por ejemplo, las perlas de estreptavidina M-280 de ThermoFisher) con antígeno biotinilado y se incubaron con levadura (normalmente 5-10x de diversidad de biblioteca). Se retiró la levadura no unida, se lavaron las perlas y la levadura unida se cultivó en medio selectivo y se indujo para rondas posteriores de selección.

Métodos de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS)

[000395] Se etiquetó levadura con un anticuerpo anti-c-Myc para monitorear la expresión y el antígeno biotinilado (la concentración varió dependiendo de la ronda de clasificación). En algunos experimentos, el antígeno se mezcló previamente con estreptavidina Alexa Fluor[®] 647 con el fin de potenciar la avidez de la interacción. En otros experimentos, el antígeno biotinilado se detectó luego de la unión y el lavado con estreptavidina-Alexa Fluor[®] 647. La levadura de singlete con unión se clasificó con un clasificador celular FACS Aria III. La levadura clasificada se cultivó en un medio selectivo, luego se indujo para rondas de selección posteriores.

[000396] Luego de que se logró una población de levadura enriquecida se colocó en placas de agar SD-CAA y se cultivaron colonias simples y se indujeron para determinar la expresión, luego se etiquetaron como se describió anteriormente para determinar su propensión a la unión con la diana. Los clones simples positivos se secuenciaron posteriormente para determinar el antígeno de unión, luego de lo cual algunos clones se expresaron en un fragmento Fc soluble o

fusionados en fragmentos Fab.

Métodos generales para el análisis

Análisis mediante ELISA

[000397] Los clones se seleccionaron de los resultados del cribado y se cultivaron en pocillos individuales de placas de pocillos profundos de 96 pocillos. Los clones fueron inducidos para determinar la expresión periplásmica mediante medio de autoinducción (obtenido de EMD Millipore) o infectados con un fago auxiliar para determinar la expresión en fagos de las variantes de Fc individuales en el fago. Se cultivaron los cultivos durante la noche y se centrifugaron para granular *E. coli*. Para el ELISA de fagos, se usó directamente sobrenadante que contenía fagos. Para la expresión periplásmica, se volvieron a suspender los gránulos en sacarosa al 20 %, seguido de dilución a 4:1 con agua y se agitó a 4°C durante 1 hora. Se centrifugaron las placas para granular los sólidos y se usó sobrenadante en el ELISA.

[000398] Las placas ELISA se recubrieron con un antígeno, normalmente a 0,5 mg/mL durante la noche, luego se bloquearon con BSA al 1 % antes de la adición del fago o extractos periplásmicos. Luego de una incubación de 1 hora y lavado de proteínas no unidas, se agregó el anticuerpo secundario conjugado con HRP (es decir, anti-Fac o anti-M13 para Fc soluble o Fc de expresión en fagos, respectivamente) y se incubó durante 30 minutos. Las placas se lavaron nuevamente y luego se desarrollaron con un reactivo TMB y se inactivaron con ácido sulfúrico 2 N. La absorbancia a 450 nm fue cuantificada mediante el uso de un lector de placas (BioTek®) y las curvas de unión se graficaron mediante el uso del software Prism cuando fuera aplicable. Se comparó la señal de absorbancia para clones analizados con un testigo negativo (extracto de fagos o paraplásmico con carencia de Fc). En algunos ensayos, la transferrina soluble u otro competidor se agregó durante la etapa de unión, normalmente en un exceso molar significativo (un exceso mayor que 10 veces).

Análisis mediante citometría de flujo

[000399] Los polipéptidos Fc variantes (expresados en un fago, en extractos periplásmicos, o de forma soluble como fusiones a fragmentos Fab) se agregaron a las células en placas de fondo en V de 96 pocillos (alrededor de 100.000 células por pocillo en PBS+BSA al 1 % (PBSA)) y se incubó en 4 °C durante 1 hora. Se centrifugaron las placas posteriormente y el medio se retiró, y luego se lavaron las

células una vez con PBSA. Las células se resuspendieron en PBSA con un anticuerpo secundario (normalmente Alexa Fluor® 647 de IgG antihumana de cabra (obtenida de Thermo Fisher)). Luego de 30 minutos, se centrifugaron las placas y el medio se retiró, las células se lavaron 1-2 veces con PBSA y luego las placas se leyeron en un citómetro de flujo (es decir, un citómetro de flujo FACSCanto™ II). Los valores de fluorescencia media se calcularon para cada condición mediante el software FlowJo y las curvas de unión se graficaron con software Prism.

Ejemplo 13. Construcción de variantes de CH3C.18

[000400] El presente ejemplo describe la construcción de una biblioteca de variantes de CH3C.18.

[000401] Se aislaron clones simples y se cultivaron durante la noche en medio SG-CAA complementado con glucosa al 0,2 % durante la noche para inducir la expresión superficial de las variantes de CH3C.18. Para cada clon, se lavaron dos millones de células tres veces en PBS+BSA al 0,5 % a pH 7,4. Se tiñeron las células con diana biotinilada, TfR humano 250 nM, TfR de cyno 250 nM o 250 nM de una proteína biotinilada no relacionada durante 1 hora a 4 °C con agitación, luego se lavaron dos veces con el mismo amortiguador. Se tiñeron las células con nuestravidina Alexafluor647 (AF647) durante 30 minutos a 4 °C, luego se lavaron dos veces. Se midió la expresión con un anticuerpo anti-c-myc con un anticuerpo secundario Alexfluor488 antipollo (AF488). Se volvieron a suspender las células y se midió la intensidad de fluorescencia mediana (MFI, por sus siglas en inglés) de AF647 y AF488 en un BD FACS CantoII. Se calculó la MFI para la población de unión a TfR para cada población y se graficaron con TfR de humano, TfR de cyno o unión testigo.

[000402] La Tabla 5 muestra la biblioteca de variantes de CH3C.18. Cada fila representa una variante que contiene las sustituciones de aminoácidos indicadas en cada posición y los aminoácidos en el resto de las posiciones son los mismos que en CH3C.18. Las posiciones que se muestran en la Tabla 5 se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU.

Tabla 5. Variantes CH3C.18

Posición	384	386	387	389	390	391	413	416	421
Fc de tipo salvaje	N	Q	P	N	N	Y	D	R	N
CH3C.4 (CH3C.18.1)	V	T	P	A	L	Y	L	E	W
CH3C.2 (CH3C.18.2)	Y	T	V	S	H	Y	S	E	Y
CH3C.3 (CH3C.18.3)	Y	T	E	S	Q	Y	E	D	H
CH3C.1 (CH3C.18.4)	L	L	V	V	G	Y	A	T	W
CH3C.18 (CH3C.18.1.18)	L	H	V	A	V	Y	P	T	W
CH3C.3.1-3 (CH3C.18.3.1-3)	L	H	V	V	A	T	P	T	W
CH3C.3.1-9 (CH3C.18.3.1-9)	L	P	V	V	H	T	P	T	W
CH3C.3.2-1 (CH3C.18.3.2-1)	L	H	V	V	N	F	P	T	W
CH3C.3.2-5 (CH3C.18.3.2-5)	L	H	V	V	D	Q	P	T	W
CH3C.3.2-19 (CH3C.18.3.2-19)	L	H	V	V	N	Q	P	T	W
CH3C.3.4-1 (CH3C.18.3.4-1)	W	F	V	S	T	T	P	N	F
CH3C.3.4-19 (CH3C.18.3.4-19)	W	H	V	S	T	T	P	N	Y
CH3C.3.2-3 (CH3C.18.3.2-3)	L	H	V	V	E	Q	P	T	W
CH3C.3.2-14 (CH3C.18.3.2-14)	L	H	V	V	G	V	P	T	W
CH3C.3.2-24 (CH3C.18.3.2-24)	L	H	V	V	H	T	P	T	W
CH3C.3.4-26 (CH3C.18.3.4-26)	W	T	V	G	T	Y	P	N	Y
CH3C.3.2-17 (CH3C.18.3.2-17)	L	H	V	V	G	T	P	T	W

Ejemplo 14. Los polipéptidos de unión al TfR que tienen configuración Cis y Fab de unión a β -amiloide (A β) atraviesan efectivamente la BHE y provocan una función efectora robusta, lo que lleva al reclutamiento microglial a las placas A β y reducción de placas en un modelo de ratón de placas A β .

[000403] Para proporcionar pruebas adicionales de que los polipéptidos de unión al TfR que tienen la configuración Cis se pueden usar en un modelo de enfermedad terapéuticamente pertinente, evaluamos polipéptidos Fc de unión al TfR que

tienen la configuración Cis que posee Fab de unión a la A β en un modelo de ratón de depósito de placa A β . En particular, estos polipéptidos se evaluaron en cuanto a su capacidad de reclutar microglía a placas A β . Brevemente, animales (3,5 meses de edad) se trataron a 50 mg/kg de forma intraperitoneal en los días 0, 3, 6 y 9 en los siguientes grupos: 1) ratones TfR^{ms/hu} KI tratados IgG de control (n=6), 2) ratones 5XFAD x TfR^{ms/hu} KI tratados con IgG de control (n=11), 3) ratones 5XFAD x TfR^{ms/hu} KI tratados con anti-A β (α -A β) (n=12), 4) ratones 5XFAD x TfR^{ms/hu} KI tratados con polipéptidos Fc de unión al TfR con configuración cis y sitio de unión de Fab a la A β (n=12), y 5) ratones 5XFAD x TfR^{ms/hu} KI tratados con polipéptidos Fc de unión al TfR con mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc (n=12). La Tabla 6 indica la SEQ ID NO para cada cadena pesada y cadena ligera de cada fusión de dímero polipéptido Fc con Fab.

Tabla 6. SEQ ID NO para fusiones de dímeros de polipéptido Fc con Fab

	Cadena pesada 1	Cadena ligera 1	Cadena pesada 2	Cadena ligera 2
Polipéptidos anti-A β -Fc	SEQ ID NO:416 (una región Fab anti-A β fusionada con la región bisagra y el polipéptido Fc humano de tipo salvaje)	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)	SEQ ID NO:416 (una región Fab anti-A β fusionada con la región bisagra y el polipéptido Fc humano de tipo salvaje)	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)
anti-A β -3C.35.23.4 ^{2xLALA}	SEQ ID NO:417 (una región Fab anti-A β fusionada a la región bisagra y 3C.35.23.4 con botón y mutaciones LALA)	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)	SEQ ID NO:418 (una región Fab anti-A β fusionada a la región bisagra y Fc con ojal y mutaciones LALA)	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)
anti-A β -3C.35.23.4 ^{cisLALA}	SEQ ID NO:417 (una región Fab anti-A β fusionada a la región bisagra y 3C.35.23.4 con	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)	SEQ ID NO: 419 (una región Fab anti-A β fusionada a la región bisagra y Fc con	SEQ ID NO:420 (cadena ligera de la región Fab anti-A β)

	Cadena pesada 1	Cadena ligera 1	Cadena pesada 2	Cadena ligera 2
	botón y mutaciones LALA)		mutaciones de ojal)	

[000404] El día 12, los ratones se perfundieron; se recolectaron cerebros y se dividieron sagitalmente a 40 μm para la inmunohistoquímica. Se seleccionaron dos secciones de cerebro por animal (sección 1: ~3 mm lateral a la línea media, sección 2: en la línea media) para el análisis IHQ. Las secciones en flotación libre se incubaron en solución bloqueadora (5 % de suero de burro en PBS con 0,3% de tritón X-100) por dos horas a temperatura ambiente, luego con anticuerpos primarios (anti-CD68, Abeta anti-humana) durante toda la noche a 4 °C. Luego las secciones se lavaron 3 veces por 15 minutos, se incubaron con anticuerpos secundarios fluorescentes por 2 horas a temperatura ambiente, solución DAPI por 20 minutos, y luego se lavaron 3 veces en PBS con 0,3 % de tritón X-100. Las secciones se montaron en rodajas y puestas en cubreobjetos utilizando el medio de montaje de fluorescencia de vidrio ProLong. Se tomaron imágenes de las rodajas utilizando un escáner de película Zeiss Axioscan.Z con una magnificación de 20 veces y se procesaron usando macros personalizados en el software Zeiss ZEN y macros de procesamiento de imagen. Específicamente, las imágenes se analizaron para determinar el área de placa dilatada (por tamaño), la superposición de microglía entre el área de placa/CD68, el area de microglía CD68⁺ dilatada, y la suma de intensidad de los píxeles (por tamaño: 9-14 μm^2 , 14-33 μm^2 , 33-75 μm^2 , y 75-3.333 μm^2), y morfología de placa, área, conteo, y suma de intensidad de los píxeles (separando placas circulares de las irregulares usando una compacidad <0.7 para las irregulares y >0.7 para las circulares; separando por tamaño: 30-125 μm^2 , 125-250 μm^2 , 250-500 μm^2 , y 500-3,300 μm^2).

[000405] A partir de estos experimentos, los ratones 5XFAD x TfR^{ms/hs} KI tratados con anti-A β que tienen un sitio de unión al TfR con dímero de polipéptido Fc cis-LALA produjeron reclutamiento microglial robusto hacia las placas A β (según se midió mediante la colocalización del marcador microglial CD68 y un marcador A β) y placas más pequeñas reducidas, con un tamaño de 30-125 μm^2 , de forma similar a anti-A β (Figuras 8A-8C). Es importante señalar que estos efectos no se

observaron con anti-A β con un sitio de unión al TfR con mutaciones LALA en ambos polipéptidos Fc, lo que coincide con la necesidad de la función efectora en el paradigma de la enfermedad. En general, estos datos, junto con otros datos *in vitro* e *in vivo* en la presente, proporcionan pruebas contundentes de que la cadena principal de la plataforma de los polipéptidos Fc de unión al TfR con una configuración cis-LALA y sitio de unión al Fab pertinente puede mitigar la seguridad de los reticulocitos, así como provocar función efectora mediada por la diana en un modelo de enfermedad pertinente (por ejemplo, acoplamiento microglial en el cerebro).

[000406] Se entiende que los ejemplos y modalidades descritas en la presente son con fines ilustrativos solamente y que diversas modificaciones o cambios en vista de estos serán sugeridos a expertos en la técnica y se deben incluir dentro del espíritu y ámbito de esta solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las secuencias de los números de acceso de secuencia citados en la presente se incorporan a la presente mediante referencia.

[000407] A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que entiende normalmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

[000408] Las invenciones descritas de forma ilustrativa en la presente pueden llevarse a la práctica de manera adecuada sin cualquier elemento o limitación que no se describa de forma específica en la presente. Por lo tanto, por ejemplo, los términos «que comprende», «que incluye», «que contiene», etc., se deberán leer en sentido amplio y de modo no taxativo. De forma adicional, los términos y las expresiones que se utilizan en la presente se emplean como términos descriptivos y no taxativos y no se pretende utilizar dichos términos y expresiones para excluir ningún equivalente de las características que se ilustran y se describen o partes de estas, sino que se reconoce la posibilidad de realizar diversas modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada.

[000409] Las sustituciones de aminoácidos para cada clon descrito en las Tablas (por ejemplo, Tablas 3 y 4) rigen las sustituciones de aminoácidos en las posiciones de registro de ese clon sobre los aminoácidos encontrados en la secuencia establecida en el Listado de Secuencias, en caso de discrepancia.

[000410] Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan expresamente en su totalidad mediante referencia, con el mismo alcance que si cada una de estas se incorporara mediante referencia de forma individual. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones.

Tabla 3. Mutaciones y posiciones de registro de CH3C

Nombre del clon	Grupo	384	385	386	387	388	389	390	391	413	414	415	416	417	418	419	420	421	
Tipo salvaje	n/a	N	G	Q	P	E	N	N	Y	..	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N
1		L	G	L	V	W	V	G	Y	..	A	K	S	T	W	Q	Q	G	W
2		Y	G	T	V	W	S	H	Y	..	S	K	S	E	W	Q	Q	G	Y
3		Y	G	T	E	W	S	Q	Y	..	E	K	S	D	W	Q	Q	G	H
4		V	G	T	P	W	A	L	Y	..	L	K	S	E	W	Q	Q	G	W
17	2	Y	G	T	V	W	S	K	Y	..	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
18	1	L	G	H	V	W	A	V	Y	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
21	1	L	G	L	V	W	V	G	Y	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
25	1	M	G	H	V	W	V	G	Y	..	D	K	S	T	W	Q	Q	G	W
34	1	L	G	L	V	W	V	F	S	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
35	2	Y	G	T	E	W	S	S	Y	..	T	K	S	E	W	Q	Q	G	F
44	2	Y	G	T	E	W	S	N	Y	..	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
51	1/2	L	G	H	V	W	V	G	Y	..	S	K	S	E	W	Q	Q	G	W
3,1-3	1	L	G	H	V	W	V	A	T	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,1-9	1	L	G	P	V	W	V	H	T	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,2-5	1	L	G	H	V	W	V	D	Q	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,2-19	1	L	G	H	V	W	V	N	Q	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,2-1	1	L	G	H	V	W	V	N	F	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,4-1		W	G	F	V	W	S	T	Y	..	P	K	S	N	W	Q	Q	G	F
3,4-19		W	G	H	V	W	S	T	Y	..	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
3,2-3		L	G	H	V	W	V	E	Q	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,2-14		L	G	H	V	W	V	G	V	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,2-24		L	G	H	V	W	V	H	T	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3,4-26		W	G	T	V	W	G	T	Y	..	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
3,2-17		L	G	H	V	W	V	G	T	..	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W

Tabla 4. Mutaciones y posiciones de registro de CH3C adicionales

Nombre del clon	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
Tipo salvaje	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
35.20.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.

35.24. 3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24. 4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24. 5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24. 6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.1	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.2	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.3	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.4	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.5	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17.6	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.22	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21. 17	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.N3 90	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20. 1.1							F		T	E	W	S	S					S		E	E					F		
35.23. 2.1							Y		T	E	W	A						S		E						F		
35.23. 1.1							F		T	E	W	S						S		E	E					F		
35.S41 3							Y		T	E	W	S	S					S		E						F		
35.23. 3.1							Y		T	E	W	V						S		E	E					F		
35.N3 90.1							Y		T	E	W	S						S		E						F		
35.23. 6.1							F		T	E	W	V						S		E	E					F		

LISTADO INFORMAL DE SECUENCIAS

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
1	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc humana de tipo salvaje
2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAK	Secuencia de dominio CH2
3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia de dominio CH3
4	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVGYSKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVAKSTWQQGWVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.1
5	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTWVSHYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKSEWQQGYVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.2
6	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTWVSHYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVEKSDWQQGHVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3
7	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESVGTWVSHYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVLKSEWQQGWVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.4

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
8	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWWSKYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.17
9	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.18
10	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVGKYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.21
11	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESMGHVWVGKYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.25
12	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVFSKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.34
13	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWWSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
14	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.44
15	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVGKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.51
16	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVATKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.1-3
17	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGPVWVHTKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.1-9
18	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVDQKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-5
19	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNQKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-19

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
20	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNFKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWFVSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-1
21	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWAVYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWFVSCSVMHEALHNH HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.18.E15 3W (CH3C.35.13)
22	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWFVSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.18.K16 5Q (CH3C.35.14)
23	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWAVYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWFVSCSVMHEALHNH HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.18.E15 3W. K165Q (CH3C.35.15)
24	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.E15 3W (CH3C.35.19)
25	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.S18 8E (CH3C.35.20)

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
26	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.E15 3W. S188E (CH3C.35.21)
27	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N16 3
28	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYQTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.K16 5Q
29	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N16 3. K165Q
30	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESXGXXXXXYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVXKXXWQQGXVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSPGK	Biblioteca CH3C (la X denota una posición de aminoácido aleatorizada)
31	NSVHVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESK NVKLTVS	Dominio apical del Tfr humano
32	NSVHVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENK SVKLTVS	Dominio apical del Tfr de Cynomolgus

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
33	SSGLPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPSDWKTD STCRMVTSESKNVKLTVSNDQAQNSVIIVDKNGRL VYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKD FEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIG VLIYMDQTKFPIVNAELSGP	Dominio apical de TfR humano de bucle trunco expresado en fagos
34	SSGLPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPSDWKTD STCKMVTSENKSVKLTVSNDQAQNSVIIVDKNGGL VYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKD FEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIG VLIYMDQTKFPIVKADLSGP	Dominio apical de TfR de cynomolgus de bucle trunco expresado en fagos
35	WESXGXXXXXYK	Registro de CH3C de primera parte
36	TVXKXXWQQGXV	Registro de CH3C de segunda parte
37	YGTEW	Secuencia conservada CH3C
38	LGLVWVG	Secuencia de unión modificada CH3C
39	YGTVWSH	Secuencia de unión modificada CH3C
40	YGTEWSQ	Secuencia de unión modificada CH3C
41	VGTPWAL	Secuencia de unión modificada CH3C
42	YGTVWSK	Secuencia de unión modificada CH3C
43	LGHVWAV	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
44	MGHVWVG	Secuencia de unión modificada CH3C
45	LGLVGVF	Secuencia de unión modificada CH3C
46	YGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C
47	YGTEWSN	Secuencia de unión modificada CH3C
48	LGHVWVG	Secuencia de unión modificada CH3C
49	LGHVWVA	Secuencia de unión modificada CH3C
50	LGPVWVH	Secuencia de unión modificada CH3C
51	LGHVWVD	Secuencia de unión modificada CH3C
52	LGHVWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
53	AKSTWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
54	SKSEWQQGY	Secuencia de unión modificada CH3C
55	EKSDWQQGH	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
56	LKSEWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
57	SKSEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
58	PKSTWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
59	DKSTWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
60	TKSEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
61	SKSEWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
62	EPKSCDKTHTCPPCP	Secuencia de aminoácidos bisagra de IgG1 humana

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
63	MMDQARSFAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN HVEMKLAVDEEENADNNTKANVTGPKRCSGSICY GTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGT ESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDST DFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQF REFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNG RLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTK KDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLN AIGVLIYMDQTKFPIVNAELSSFFGHAHLGTGDPYT PGFPSFNHTQFPSPRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFG NMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSEKNVKLTVSNV LKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPG AAKSGVGTALLKLAQMFSMDVLKDGFPSPRSIIF ASWSAGDFGSGVATEWLEGYLSSLHLKAFTYINL DKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVT GQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPA VSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVA RAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSF VRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSR LTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSP YVSPKESPF RHVFWGSGSHTLPALLENLKLKQKQ NGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDI DNEF	Proteína del receptor de transferrina humana 1 (TFR1)
64	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.19
65	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20
66	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
67	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWISNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.22
68	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWISNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23
69	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWISNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24
70	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH HYTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18
71	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18
72	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
73	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18
74	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYFTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18
75	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYHTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Variante CH3C.18
76	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1
77	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.2
78	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
79	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.4
80	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.5
81	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.6
82	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.7
83	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.8
84	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFECWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.9

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
85	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREETWQQGFVFKCWMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 0
86	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTPEEWQQGFVFKCWMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 1
87	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREETWQQGFVFSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 2
88	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 3
89	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREETWQQGFVFTCWMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 4
90	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFTCWMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 5

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
91	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWWEWESYGTWSSYRTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTREWQQGFVFTCGVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 6
92	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVLWESYGTWSSYKTTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7
93	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVLWESYGTWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 8
94	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1
95	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTWASYSKTTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.2
96	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTWVSYKTTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
97	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.4
98	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWASYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.5
99	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.6
100	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWVESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .1
101	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWASYKTTTPVLDSGD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .2
102	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWVSYKTTTPVLDSGD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
103	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .4
104	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWASYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .5
105	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWWSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a .6
106	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1
107	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWANYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2
108	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWVNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
109	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4
110	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWANYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.5
111	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.6
112	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESFGTEWSNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.1
113	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWANYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.2
114	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
115	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTWEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.4
116	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.5
117	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.6
118	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.1
119	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTWEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2
120	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTWEWVSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
121	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.4
122	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVLWESFGTEWASYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.5
123	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVLWESFGTEWVSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.6
124	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N39 0
125	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVWESLGHVWVNQKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.16
126	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNQQTTPVLDS GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.17

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
127	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWESLGHVWVNQQTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.18
128	MMDQARSASFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNS HVEMKLGVDDEENTDNNTKANGTKPKRCGGNIC YGTIAVIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAG TESPAREEPEEDFPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTT DFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQF REFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNG GLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTK KDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLN AIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYT PGFPSFNHTQFPSPQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFG NMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNV LKETKILNIFGVKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGP GAAKSSVGTALLLKL AQMFSDMVLKDGFPQRSII FASWSAGDFGSGATEWLEGYLSSLHLKAFTYIN LDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVT GRSLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPA VSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVA RAAAEVAGQFVIKLTHDTELNLDYERYNSQLLLFL RDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSR LTTDFRNAEKRDKFVMMKKLNDRVMRVEYYFLSP YVSPKESPF RHVFWGSGSHTLSALLESLKLRRQNN SAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDID NEF	TfT de Cyno
129	MGWSCILFLVATATGAYAGTSSGLPNIPVQTISR AAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNV KLTVSNDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVA YSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVI VRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIV NAELSASHHHHHH	Dominio apical de TfR permutado con etiqueta de His
130	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESLGHVWAVYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc CH3C.18 expresada
131	EWESFGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
132	EWESYGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
133	EWESYGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
134	EWESYGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C
135	EWESFGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
136	EWESFGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
137	WWESFGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C
138	WWESYGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
139	WWESYGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
140	WWESYGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C
141	WWESFGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
142	WWESFGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
143	EWESFGTEWSN	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
144	EWESYGTEWAN	Secuencia de unión modificada CH3C
145	EWESYGTEWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
146	EWESYGTEWSN	Secuencia de unión modificada CH3C
147	EWESFGTEWAN	Secuencia de unión modificada CH3C
148	EWESFGTEWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
149	WWESFGTEWSN	Secuencia de unión modificada CH3C
150	WWESYGTEWAN	Secuencia de unión modificada CH3C
151	WWESYGTEWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
152	WWESYGTEWSN	Secuencia de unión modificada CH3C
153	WWESFGTEWAN	Secuencia de unión modificada CH3C
154	WWESFGTEWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
155	LWESFGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
156	LWESYGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
157	LWESYGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
158	LWESYGTEWSS	Secuencia de unión modificada CH3C
159	LWESFGTEWAS	Secuencia de unión modificada CH3C
160	LWESFGTEWVS	Secuencia de unión modificada CH3C
161	WWESLGHWAV	Secuencia de unión modificada CH3C
162	EWESLGHWAV	Secuencia de unión modificada CH3C
163	LWESLGHWAV	Secuencia de unión modificada CH3C
164	YWESLGHWAV	Secuencia de unión modificada CH3C
165	EWESLGLVWVF	Secuencia de unión modificada CH3C
166	WWESLGHWVN	Secuencia de unión modificada CH3C
167	EWESLGHWVN	Secuencia de unión modificada CH3C

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
168	TKEEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
169	SKEEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
170	PKTSWQQGW	Secuencia de unión modificada CH3C
171	TREEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
172	TPEEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
173	TGEEWQQGF	Secuencia de unión modificada CH3C
174	TVXKXXWQQGXV	Registro de CH3C de segunda parte
175	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.8 (Clon CH3C.35.20 con mutaciones YTE y LALAPG)
176	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.9 (Clon CH3C.35.21 con mutaciones YTE y LALAPG)

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
177	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutación de botón
178	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y LALA
179	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y LALAPG
180	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y YTE
181	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALA e YTE
182	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
183	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón
184	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y LALA
185	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal y LALAPG
186	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD FFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal y YTE
187	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
188	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
189	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutación de botón
190	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALA
191	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALAPG
192	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón e YTE
193	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALA e YTE
194	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
195	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal
196	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal y LALA
197	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal y LALAPG
198	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal e YTE
199	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
200	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
201	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutación de botón
202	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón y LALA
203	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón y LALAPG
204	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón e YTE
205	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALA e YTE
206	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
207	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal
208	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal y LALA
209	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal y LALAPG
210	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal e YTE
211	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
212	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
213	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutación de botón
214	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón y LALA
215	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón y LALAPG
216	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón e YTE
217	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALA e YTE
218	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
219	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal
220	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal y LALA
221	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal y LALAPG
222	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal e YTE
223	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
224	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
225	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutación de botón
226	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón y LALA
227	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón y LALAPG
228	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón e YTE
229	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón, LALA e YTE
230	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
231	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal
232	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal y LALA
233	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal y LALAPG
234	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal e YTE
235	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
236	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
237	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutación de botón
238	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón y LALA
239	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón y LALAPG
240	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón e YTE
241	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALA e YTE
242	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYTRVVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
243	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal
244	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal y LALA
245	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal y LALAPG
246	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal e YTE
247	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
248	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
249	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVTKEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	Secuencia Fc CH3C.35 expresada
250	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con botón
251	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc humana con mutaciones de ojal
252	APEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA
253	APEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc humana con mutaciones de ojal y mutaciones LALA

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
254	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVWWEYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-3C.35.21 con mutaciones de botón
255	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVWWEYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA
256	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-Fc con mutaciones de botón

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
257	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-Fc con mutaciones de botón y LALA
258	QIVLSQSPAILSASPGKEVTMTCRASSSVSYIHWFQ QKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYS LTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	Cadena ligera para fusión de anti-hCD20
259	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPGQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYYG SSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVWWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti- mCD20-3C.35.21 con mutaciones de botón

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
260	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPGQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYG SSPWFAFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVWVESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti- mCD20-3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA
261	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPGQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYG SSPWFAFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti-mCD20-Fc con mutaciones de ojal
262	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPGQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYG SSPWFAFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti-mCD20-Fc con mutaciones de botón y LALA

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
263	QIVMSQSPAILSASPGEKVTMTCRARSSVSYIHWY QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPGRFSGSGSGTSY SLTITRVEAEDAATYYCQQWSSKPPTFGGGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	Cadena ligera para fusión de anti-mCD20
264	GAATACATACACTCCTCGTGAGG	sgRNA-1
265	AGAAGAATACTTAACATCTTTGG	sgRNA-2
266	GCTCAGAACTCCGTGATCATCGTGGATAAGAAC GGCCGGCTGGTGTACCTGGTGGAGAACCCTGGC GGATACGTGGCTTACTCTAAGGCCGCTACCGTG ACAGGCAAGCTGGTGCACGCCAACTTCGGAACC AAGAAGGACTTTGAGGATCTGTACACACCAGTG AACGGCTCTATCGTGATCGTGCGCGCTGGAAAG ATCACCTTCGCCGAGAAGGTGGCTAACGCCGAG AGCCTGAACGCCATCGGCGTGCTGATCTACATG GATCAGACAAAGTTTCCCATCGTGAACGCTGAG CTGTCTTTCTTTGGACACGCTCACCTGGGCACCG GAGACCCATACACACCCGGATTCCCTAGCTTTA ACCACACCCAGTTCCCCCCTTCCAGGTCTAGCG GACTGCCAAACATCCCCGTGCAGACAATCAGCA GAGCCGCTGCCGAGAAGCTGTTTGGCAACATGG AGGGAGACTGCCCCTCCGATTGGAAGACCGACT CTACATGTAGGATGGTGACCTCCGAGTCAAAAA ATGTCAAACCTACCCGTGTCCAAT	Secuencia de ADN de inserción de dominio apical humano

267	CTATACAGATATATAAGGATGGGGCTTTTTTTTT TTAATTTTTAAAAAAGATTTGTTTATTATTATAT GTAAGTACACTGTAGCTGTCTTCAGACACTCCA GAAGAGGGCATCAGATCTCATTACAGATGGTTG TGAGCTACCATGTGGTCACTGGGATTTGAACTC AGGACCTTCAGAAGAGCAGTCAGTGCTCTTAAC TGATAAGTTAATAATAAGTTAACTGATAAGGTA ATAAAGGTCCCCTATGAAAAGGGTTCAGACCCA AAGAGTCAGAGATCCACAGGTTGAGAACCTCCT GCCCTAAATCTTGTTGCTCTCCTTATTCAAGACC ACTCCTGTTGCAGTTGCTCTTAAGCATGAGTATG CTCCCTTCTGAAAGTCTCCATAGCAGCCATCTCT CCAGCCCCAGAGTGAGGCTTTTAAAGGAATCTT CATGATAAATAGAATTTTTAAAAAAGTAACTGA AGTTACTTAAGGTGTTAAGGTACATTTTATTCCC TCAGTAACTGGTTAATCTAGCAGTTTTGAGTCAT ACTTCATTTATCTTGACTTTGAAGAGTAAGATAT TAAACAATTTGCTTGATCCTTGAAGTAAGTATT TAAATAGACATTTTAATGCAGACTTTTTTTAGTT GACTGGTGGTGTGTCACGTGGTCAATCCAAGTA CTCATGGGAGGCAGAGGCAGGAGGATCTCTCTC TAGACCAGCCTGGTCTATAGAGCAAGTTCCAGG ACAGCCAGGGCTACACAGAAACCTTGTTTCAAA CAAGACTTTTATCCTTCCAGGCAGCTGAGCCAG AATACATACACTCCTAGGGAAGCTGGTTCACAG AAGGACGAATCCCTGGCATACTACATCGAGAAT CAGTTTCACGAGTTCAAGTTTAGCAAAGTCTGG AGAGATGAGCACTACGTGAAGATCCAGGTGAA GAGCTCCGCTCAGAACTCCGTGATCATCGTGGA TAAGAACGGCCGGCTGGTGTACCTGGTGGAGAA CCCTGGCGGATACGTGGCTTACTCTAAGGCCGC TACCGTGACAGGCAAGCTGGTGCACGCCAACTT CGGAACCAAGAAGGACTTTGAGGATCTGTACAC ACCAGTGAACGGCTCTATCGTGATCGTGCGCGC TGGAAGATCACCTTCGCCGAGAAGGTGGCTAA CGCCGAGAGCCTGAACGCCATCGGCGTGCTGAT CTACATGGATCAGACAAAGTTTCCCATCGTGAA CGCTGAGCTGTCTTTCTTTGGACACGCTCACCTG GGCACCGGAGACCCATACACACCCGGATTCCCT AGCTTTAACCACACCCAGTTCCCCCCTTCCAGGT CTAGCGGACTGCCAAACATCCCCGTGCAGACAA TCAGCAGAGCCGCTGCCGAGAAGCTGTTTGGCA ACATGGAGGGAGACTGCCCCCTCCGATTGGAAGA CCGACTCTACATGTAGGATGGTGACCTCCGAGT CAAAAAATGTCAAACCTACCGTGTCCAATGTGC TGAAAGAACGACGCATCCTGAATATCTTTGGAG TTATTAAAGGTTATGAGGAACCAGGTAAAGACC TGCTTTGTACTTTTTCACTTTACTGTTTTGCTTAC TGTAGATAGGTCTAGTGCAGGAAGGAGAAGGAT GCTAGCTTGGCATGAACTGCTATATCTTGTTTGT CCTAATGTGAACTTTGTAATATATGTGTATATAA	Secuencia de ADN donante completo (grupo de homología izquierdo: 1- 817; grupo de homología derecho: 1523-2329; dominio apical humano: 941- 1492; secuencia optimizada de codones: 821- 1522)
-----	--	--

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
	CACATAATATGGCCATGTAAGTGTATGGAGAGG CCAGAGTTAAGTATTAATATCTTTCTGTAATCA TTTAAAATTTTACATATGAAGGTCAGTGAACAG ATTGAAGGAGTTTTGTCCAGGTGGGACTTGGAT CTAAATTTTTTACAATGCCTGGCAGCAAACACCT TTTTAATCAACTGAGCTGTCTCCCCAAATAAAGT GAATGTGATATCAGCTTGTGGATAATTTTTTTTT GTTGCTTTGATAAGTGGTTTTCTTACAGGATCAC ATACCAGTTCTGTCCATAGCATTAACAAACAT AACTGTCATGCAGTAGATTAATGTGCAGGGCAC ATCCAACAGTCACATTTATTAATAGGACAAAAA GTTGGACCTTATATGTAGCACACCTATAATTCCA GTGCTAGGAAGATCCGGGTAGGAGATCCTTAGT TCGGTGCTACTTAGTGAGGGTTTGTTTCAAAAA ACAAAAGCTATGATGGTGTGTTGCCTTTTTTCTT TTAGACCGTTATGTTGTAGTAGGAGCCCAGAGA GACGCTTTGGGTGCTGGTGTGCGGCGAAGTCC AGTGTGGGAACAGGTCTTCTGTTGAACTTGCC CAAGTATTCTCAGATATGATTTCAAAAGGT	
268	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1
269	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSG GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1
270	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1
271	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSG SFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.S41 3

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
272	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 .1
273	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N39 0.1
274	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.6 .1
275	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y LALAPG
276	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón e YTE
277	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
278	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
279	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones ojal
280	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones ojal y LALA
281	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal y LALAPG
282	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones ojal e YTE
283	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones ojal, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
284	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal, LALAPG y YTE
285	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutación de botón
286	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón y LALA
287	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón y LALAPG
288	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón e YTE
289	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
290	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE
291	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón
292	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal y LALA
293	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal y LALAPG
294	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal e YTE
295	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
296	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
297	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutación de botón
298	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón y LALA
299	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón y LALAPG
300	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón e YTE
301	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
302	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFIYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE
303	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal
304	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal y LALA
305	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal y LALAPG
306	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal e YTE
307	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
308	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
309	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón
310	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón y LALA
311	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón y LALAPG
312	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón e YTE
313	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
314	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFIYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón, LALAPG e YTE
315	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal
316	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal y LALA
317	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal y LALAPG
318	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal e YTE
319	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal, LALA e YTE

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
320	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALH YHQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
321	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALH SHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones M198L y N204S
322	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALH SHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y M198L y N204S
323	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALH SHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
324	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALH SHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
325	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALH SHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
326	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
327	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
328	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones M198L y N204S
329	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y M198L y N204S
330	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
331	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
332	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
333	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
334	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
335	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones M198L y N204S
336	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón y M198L y N204S
337	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
338	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
339	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
340	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
341	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
342	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones M198L y N204S
343	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
344	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
345	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
346	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
347	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
348	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
349	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
350	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón y M198L y N204S
351	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
352	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
353	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
354	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
355	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1 7.2 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
356	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones M198L y N204S
357	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón y M198L y N204S
358	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
359	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
360	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
361	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
362	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
363	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones M198L y N204S
364	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y M198L y N204S
365	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
366	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
367	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
368	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
369	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
370	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones M198L y N204S
371	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón y M198L y N204S
372	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
373	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
374	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
375	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
376	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGD SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
377	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones M198L y N204S
378	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón y M198L y N204S
379	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
380	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFIYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
381	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
382	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
383	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDS DGSFFLVSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
384	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones M198L y N204S
385	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
386	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón, LALA, y M198L y N204S
387	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de botón, LALAPG, y M198L y N204S
388	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal y M198L y N204S
389	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal, LALA, y M198L y N204S
390	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1 .1 con mutaciones de ojal, LALAPG, y M198L y N204S
391	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
392	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón y LALA
393	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón y LALAPG
394	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón e YTE
395	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón, LALA e YTE
396	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones botón, LALAPG e YTE
397	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones ojal

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
398	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones ojal y LALA
399	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de ojal y LALAPG
400	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones ojal e YTE
401	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones ojal, LALA e YTE
402	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
403	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
404	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón y M198L y N204S
405	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón, LALA y M198L y N204S
406	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de botón, LALAPG y M198L y N204S
407	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de ojal y M198L y N204S
408	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones de ojal, LALA y M198L y N204S
409	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSH YTQKSLSLSPGK	Secuencia Fc con mutaciones ojal, LALAPG y M198L y N204S

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
410	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGGSFLL YSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-3C.35.23 con mutaciones de botón
411	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARST YYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGGSFLL YSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	Cadena pesada para anti-hCD20-3C.35.23 con mutaciones de botón y LALA
412	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYG SSPWFA YWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGGSFLLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti- mCD20-3C.35.23 con mutaciones de botón

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
413	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWM HWIKQRPQGQGLEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKA TLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYYG SSPWFAFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cadena pesada para anti- mCD20-3C.35.23 con mutaciones de botón y LALA
414	YxTEWSS	Motivo de consenso para CH3C.35
415	TxxExxxxF	Motivo de consenso para CH3C.35
416	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGM HWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDR GIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSE FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	Cadena pesada para polipéptido Fc anti-A β
417	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGM HWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDR GIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSE FLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	Cadena pesada para 3C.35.23.4 anti-A β con botón y mutaciones LALA

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
418	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDR GIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	Cadena pesada para Fc anti-A β con ojal y mutaciones LALA
419	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDR GIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	Cadena pesada para Fc anti-A β con mutaciones de ojal
420	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	Cadena ligera para fusión anti-A β
421	HHHHHH	Etiqueta 6XHis