

ANTICUERPOS

Campo de la invención

La presente invención se refiere a anticuerpos que son específicos para CD45. Los anticuerpos incluyen anticuerpos que son monoespecíficos o biparatópicos para CD45. Los anticuerpos se pueden usar, por ejemplo, para destruir o reducir las células diana CD45 positivas, en particular para el tratamiento del cáncer o de enfermedades autoinmunes mediadas por células CD45 positivas o antes del trasplante de células.

Antecedentes de la invención

CD45, la primera y prototípica proteína tirosina fosfatasa tipo receptor, se expresa en las células hematopoyéticas nucleadas y desempeña un papel central en la regulación de las respuestas celulares. CD45 también se conoce como PTPRC, T200, Ly5, antígeno común leucocitario (LCA) y B220. CD45 es la proteína de superficie celular más abundante expresada en la superficie de las células T y B. Es esencial para las células B y T. Es esencial para el desarrollo y la activación de las células B y T. Los estudios de líneas celulares mutantes de CD45, ratones deficientes en CD45 y seres humanos deficientes en CD45 demostraron inicialmente el papel esencial de CD45 en la transducción de señales del receptor de antígenos de células T y B y en el desarrollo de linfocitos. Ahora se sabe que CD45 también modula las señales procedentes de los receptores de integrinas y citoquinas. A diferencia de su papel positivo en la señalización de los receptores de antígenos, CD45 actúa

como regulador negativo de la señalización mediada por integrinas, por ejemplo en los macrófagos. CD45 también puede desempeñar un papel en la regulación de la hematopoyesis y las respuestas antivirales dependientes del interferón. CD45 también puede desempeñar un papel en la supervivencia celular.

CD45 comprende un dominio extracelular muy glucosilado y variable de aproximadamente 400 a 550 aminoácidos, seguido de un dominio transmembrana único y un largo dominio intracelular de 705 aminoácidos, que contiene dos dominios fosfatasa repetidos en tándem. La regulación de la expresión de CD45 y la expresión de múltiples isoformas de empalme alternativo (que empalman alternativamente los exones 4, 5 y 6 del gen CD45 y se designan A, B y C) regulan críticamente la actividad fosfatasa y la transducción diferencial de señales. CD45 afecta las respuestas celulares mediante el control del umbral relativo de sensibilidad a los estímulos externos. La alteración de esta función puede contribuir a autoinmunidad, inmunodeficiencia y malignidad.

Todas las isoformas de CD45 muestran actividad tirosina fosfatasa mediada por el dominio citoplasmático de la molécula que comprende las dos repeticiones en tándem de los dominios fosfatasa D1 y D2, cada uno de los cuales contiene un motivo HC(X)₅R altamente conservado. Se considera que toda la actividad tirosina fosfatasa de CD45 proviene del dominio D1, mientras que el dominio D2 posiblemente está implicado en la regulación. Uno de los principales objetivos de la tirosina fosfatasa CD45 son las quinasas de la familia Src, lo que refleja el papel de CD45 en la señalización celular. De acuerdo en dónde actúe la actividad fosfatasa de CD45, puede activar o regular por disminución la actividad de dichas quinasas de la familia Src.

CD45 es una diana atractiva para el tratamiento del cáncer y otros contextos terapéuticos. Dada la importancia

de CD45, existe una necesidad constante de agentes que se puedan dirigir a CD45 y utilizar para el tratamiento de las enfermedades mencionadas.

Síntesis de la invención

La presente invención proporciona anticuerpos específicos para CD45. Los anticuerpos proporcionados incluyen anticuerpos monoespecíficos y biparatópicos específicos para CD45. Ambos se pueden utilizar en la destrucción y/o reducción de las células que expresan CD45.

En particular, la invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42; y

(b) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 46, 52, 53 y 54, una CDR2 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 47, 55, 56, y 57, y una CDR3 que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 48.

La invención también proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de cadena liviana y pesada:

(a') una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID

NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96; y

(b') una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 102 a 105.

Las regiones variables de las cadenas liviana y pesada pueden estar humanizadas. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede ser biparatópico al comprender un primer dominio variable específico para CD45 del primer grupo de anticuerpos expuesto anteriormente (es decir, los anticuerpos con las cadenas (a) y (b)) y un segundo dominio variable específico para CD45 del segundo grupo de anticuerpos expuesto anteriormente (es decir, los anticuerpos con las cadenas (a') y (b')). Una región constante del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo puede comprender una modificación o modificaciones para reducir o eliminar la unión a un receptor Fc. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede unirse específicamente tanto a CD45 humano como a CD45 de *monomolgus*.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo expuesto en la presente y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede utilizar para destruir reducir las células que expresan CD45 en un sujeto, por ejemplo en el tratamiento de un cáncer sanguíneo, tal como leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

Breve descripción de las Figuras

Figura 1 compara la capacidad de los anticuerpos monoespecíficos (monoclonales) 17415, 17552 y 4133 para

destruir PBMC (células mononucleares de sangre periférica) humanas que expresan CD45. También se incluyó un anticuerpo VR5604 de control del isotipo que no se une a CD45.

Figura 2 proporciona alineamientos de secuencias de las distintas secuencias implicadas en la humanización de la región variable de la cadena liviana del anticuerpo 17415 original de conejo. Las CDR del anticuerpo de conejo se injertaron en una estructura aceptora IGKV1-9 humana (conjunto superior de alineamientos) o en una estructura aceptora IGKV4-1 (conjunto inferior de alineamientos). También se transfirieron varios residuos de la estructura donante y se incluyeron algunas modificaciones de CDR. Las CDR se muestran en negrita y subrayadas. Los residuos de aminoácidos que divergen de las CDR originales o de las estructuras donantes humanas se muestran sombreados en negrita y cursiva. Las variantes de injerto generadas se muestran debajo de las secuencias aceptoras.

Figura 3 proporciona alineamientos de secuencias de las distintas secuencias implicadas en la humanización de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 17415 original de conejo. Las CDR del anticuerpo de conejo se injertaron en una estructura aceptora IGHV3-72 humana. También se transfirieron varios residuos de la estructura donante y se incluyeron algunas modificaciones de CDR. Las CDR se muestran en negrita y subrayadas. Los residuos de aminoácidos que divergen de las CDR originales o de las estructuras donantes humanas se muestran sombreados en negrita y cursiva. Las variantes de injerto generadas se muestran debajo de las secuencias aceptoras.

Figura 4 proporciona alineamientos de secuencias de las distintas secuencias implicadas en la humanización del anticuerpo 17552 original de conejo, con el conjunto superior de alineamientos para la humanización de la cadena liviana en una estructura aceptora IGKV1-8 humana y el conjunto

inferior de alineamientos para la humanización de la cadena pesada en una estructura aceptora IGHV4-4 humana. También se transfirieron varios residuos de la estructura donante y se incluyeron algunas modificaciones de CDR. Las CDR se muestran en **negrita y subrayadas**. Los residuos de aminoácidos que divergen de las CDR originales o de las estructuras donantes humanas se muestran **sombreados en negrita y cursiva**. Las variantes de injerto generadas se muestran debajo de las secuencias aceptoras.

Figura 5 muestra los resultados de ensayos de reducción de linfocitos humanos que compara: **(A)** variante de injerto de cadena pesada H1 17415 IgG LALA apareada con variantes de injerto de cadena liviana L1 a L5 17415, y **(B)** variante de injerto de cadena pesada H1 a H4 17415 IgG LALA apareadas con variante de injerto de cadena liviana L1 17415 IgG LALA.

Figura 6 muestra los resultados de ensayos de linfocitos humanos para: **(A)** variantes de injerto de cadena liviana L1 a L5 17415 apareada con la cadena pesada 17415 quimérica que comprende la región variable de cadena pesada 17415 original de conejo versus cadenas liviana y pesada 17415 quiméricas que comprende las regiones variable de cadena liviana y pesada 17415 original de conejo, y **(B)** una cadena liviana 17415 quimérica que comprende la región variable de cadena liviana 17415 original de conejo apareada con variantes de injerto de cadena pesada H1 a H4 17415 versus cadenas liviana y pesada 17415 quiméricas que comprende las regiones variable de cadena liviana y pesada 17415 original de conejo.

Figura 7 muestra los resultados de ensayos de reducción de células T humanas para: **(A)** variante de injerto de cadena pesada 17415 H5 apareada con variantes de injerto de cadena liviana 17415 L6, L7, L13, L14, L15, y L16, y **(B)** variante de injerto de cadena pesada 17415 H6 apareada con las mismas variantes de injerto de cadena liviana.

Figura 8 muestra los resultados para destrucción de células Jurkat humanas para anticuerpos en el formato IgG1 LALA de la siguiente manera: **(A)** variantes de injerto de la región variable de cadena liviana L1 a L5 17415 apareada con la variante de injerto de cadena pesada 17415 H1, **(B)** variante de injerto de la región variable de cadena liviana L1 17415 apareada con variantes de injerto de cadena pesada H1 a H4 17415, **(C)** un anticuerpo de cadena liviana y pesada quimérico 17415 que comprende las regiones variables originales del anticuerpo 17415 de conejo original se comparó con los anticuerpos que tienen la cadena liviana quimérica apareada con cada una de las variantes de injerto de cadena pesada H1 a H4 17415, y **(D)** un anticuerpo de cadena liviana y pesada quimérico 17415 que comprende las regiones variables originales del anticuerpo 17415 de conejo original se comparó con los anticuerpos que tienen las variantes de la cadena liviana L1 a L5 17415 apareadas con la cadena pesada quimérica.

Figura 9 muestra los resultados para un ensayo de reducción de células T humanas para los anticuerpos IgG1 LALA que comprenden variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 o 16 y la variante de injerto de cadena pesada 17415 H6; y la variante de injerto de cadena 1 17552 y las variantes de injerto de cadena pesada 1 o 4 17552.

Figura 10 muestra los resultados para un ensayo de reducción de células Jurkat humanas para anticuerpos IgG1 LALA que comprenden variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 o 16 y la variante de injerto de cadena pesada 17415 H6.

Figura 11 muestra resultados para la unión de injertos de IgG1 LALA 17415 humanizados que contienen variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15, y 16 apareadas con la variante de injerto de cadena pesada 17415 6 a CD45 humano

Figura 12 muestra resultados para la unión a CD45 humano de diversas variantes de anticuerpo 17415/17552, 17415/5604 y 5604/17552 biparatópicos y anticuerpo monoespecífico 5604 para los diversos anticuerpos indicados, incluidos aquellos con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7 **(A)**, 15 **(B)**, y 16 **(C)**.

Figura 13 muestra resultados para la unión a CD45 cino de diversas variantes de anticuerpo 17415/17552, 17415/5604 y 5604/17552 biparatópicos y anticuerpo monoespecífico 5604 para los diversos anticuerpos indicados, incluidos aquellos con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7 **(A)**, 15 **(B)**, y 16 **(C)**.

Figura 14 muestra los resultados de un ensayo de reducción de células T humanas para diversas variantes de anticuerpo 17415/17552, 17415/5604 y 5604/17552 biparatópicos que comprende variantes de injerto de cadena liviana 7 **(A)**, 15 **(B)**, y 16 **(C)**.

Figura 15 muestra los resultados de a ensayo de reducción de células Jurkat humanas para diversas variantes de anticuerpo 17415/17552, 17415/5604 y 5604/17552 biparatópicos que comprende variantes de injerto de cadena liviana 7 **(A)**, 15 **(B)**, y 16 **(C)**.

Figura 16 muestra los resultados de un ensayo de reducción de células T de cynomolgus para los anticuerpos monoespecíficos (monoclonales) IgG1 17415 y 17552 en comparación con el anticuerpo IgG1 17415/17552 biparatópico y el anticuerpo IgG1 4133/6294 biparatópico.

Figura 17 muestra la comparación de la capacidad de los anticuerpos IgG1 17415-17552 e IgG1 4133-6294 biparatópicos para destruir PBMC humanos (Células mononucleares de sangre periférica) que expresan CD45. También se incluyó un anticuerpo de control del isotipo VR5604 (que no se une a CD45).

Figura 18 muestra la comparación de la capacidad de los anticuerpos IgG1 17415-17552 e IgG1 YTH24.5-YTH54.12 biparatópicos para reducir la cantidad de células T en la población de PBMC. También se incluyen los resultados para control de isotipo (IgG1 5604).

Figura 19 muestra los resultados para destrucción de células Jurkat humanas para los anticuerpos IgG1 4133-6294, e IgG1 17415-17552 biparatópicos. También se incluyó un anticuerpo de control del isotipo VR5604 (que no se une a CD45).

Figura 20 muestra los niveles de inducción de las citoquinas: (A) IFN γ , (B) IL-6 y (C) TNF α en sangre entera el anticuerpo IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 biparatópico o el anticuerpo monoespecífico (monoclonal) IgG1 LALA 17415gL15gH6, en comparación con controles con especificidad irrelevante (IgG1 LALA 5604), Campath o PBS.

Figura 21 muestra una comparación de la capacidad de los anticuerpos IgG1 17415-17552, e IgG1 YTH24.5-YTH54.12 biparatópicos para destruir células Jurkat. También se incluyó un anticuerpo de control del isotipo VR5604 (que no se une a CD45).

Figura 22 muestra el porcentaje de reducción de las células T en las líneas de células T (A) Peers, (B) SUPT11, y (C) SUDHL1 para anticuerpos IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 biparatópicos y anticuerpos IgG1 LALA 17415gL15gH6 monoespecíficos (monoclonales).

Figura 23 muestra el porcentaje de reducción de células B en líneas de células B (A) Ramos y (B) DOHH2 para anticuerpos IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 biparatópicos y 17415gL15gH6 monoespecíficos (monoclonales).

Figura 24 muestra el porcentaje de reducción de células T en PBMC derivadas de (A) voluntarios sanos 336BB + 330CD, y de (B) un paciente con leucemia de células T 4368POS con el anticuerpo IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4

biparatópico o anticuerpo IgG1 LALA 17415gL15gH6 monoespecífico (monoclonal) en comparación con un control.

Figura 25 muestra el porcentaje de reducción de células B en PBMC derivadas de (A) voluntarios sanos 336BB + 330CD, y de (B) un paciente con leucemia de células B 4650ADG con el anticuerpo IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 biparatópico o anticuerpo IgG1 LALA 17415gL15gH6 monoespecífico (monoclonal) en comparación con un control.

Figuras 26 y 27 proporcionan respectivamente un resumen de resultados experimentales para algunos de los anticuerpos monoespecíficos y biparatópicos preferidos de la invención.

Figuras 28, 29 y 30 proporcionan respectivamente la secuencia de aminoácidos del CD45 humano de longitud completa (SEQ ID NO: 127), los dominios extracelulares D1 a D4 del CD45 humano (SEQ ID NO: 128), y el CD45 de mono cynomolgus de longitud completa (SEQ ID NO: 129).

Figura 31 proporciona las secuencias completas de la cadena pesada (arriba) y de la cadena liviana (abajo) del anticuerpo IgG1 LALA VR17415gL15gH6, con las secuencias de la región constante de cada una de ellas mostradas en cursiva. La región constante de la cadena pesada se puede subdividir, desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal, en la región CH1 (subrayada), la región bisagra (no subrayada), la región CH2 (subrayada) y la región CH3 (no subrayada).

Figura 32 muestra las secuencias completas de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo IgG1 LALA VR17415gL15gH6 x VR17552gL1gH4 biparatópico. Las secuencias de las cadenas pesada y liviana del VR17415gL15gH6 son la primera superior y la segunda de las secuencias mostradas. Las secuencias de cadena pesada y liviana para la especificidad VR17552gL1gH4 se muestran como la secuencia segunda desde abajo y abajo. Para todas las secuencias, la secuencia de la región constante se muestra en cursiva. Las regiones constantes de

la cadena pesada se pueden subdividir, desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal, en la región CH1 (subrayada), la región bisagra (no subrayada), la región CH2 (subrayada) y la región CH3 (no subrayada). Las dos cadenas pesadas presentan modificaciones "botones en ojales" con las mutaciones para ellas que se muestran sombreadas.

Figura 33 proporciona un ejemplo de secuencias preferidas de regiones constantes de cadena pesada y liviana que se emplearán en un anticuerpo de la presente invención, siendo la región constante una región constante IgG1 LALA modificada. La Tabla proporciona la secuencia de aminoácidos para la cadena pesada con y sin modificaciones "botones en ojales". Las modificaciones "botones en ojales" se pueden emplear en el caso de anticuerpos biparatópicos para promover la formación de heterodímeros y, por lo tanto, la formación de anticuerpos biparatópicos versus la formación de anticuerpos monoespecíficos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona, entre otras cosas, anticuerpos específicos para CD45, en particular anticuerpos que son monoespecíficos para CD45 y anticuerpos que son biparatópicos para CD45. Los anticuerpos son útiles para dirigirse a células que expresan CD45, en particular para reducir y/o destruir células que expresan CD45. En una forma de realización preferida, los anticuerpos proporcionados son capaces de unirse específicamente tanto al CD45 humano como al de mono. En una forma de realización particularmente preferida, los anticuerpos son capaces de unirse específicamente tanto al CD45 humano como al CD45 de mono cynomolgus. Tales anticuerpos son particularmente útiles ya que se pueden estudiar en ensayos preclínicos utilizando monos cynomolgus. En una forma de realización, un anticuerpo

de la invención es monoespecífico para CD45, es decir, tiene una única especificidad para CD45. En una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo proporcionado es un anticuerpo que es biparatópico para CD45, que combina en una molécula única dos de las especificidades de unión monoespecíficas para CD45 establecidas en la presente. En otra forma de realización preferida, se proporcionan anticuerpos biparatópicos que se unen a células humanas y de mono cynomolgus. En una forma de realización particularmente preferida, se proporcionan anticuerpos biparatópicos para CD45 que se unen y destruyen tanto a células humanas como de mono cynomolgus.

A continuación se ofrecen más detalles sobre los anticuerpos y sus usos.

Moléculas de CD45

Los anticuerpos de la presente invención son específicos para CD45. Como se explicó anteriormente, CD45 es un miembro de la familia de las proteínas tirosina fosfatasas (PTP). Se sabe que las PTP son moléculas de señalización que regulan diversos procesos celulares, que incluye crecimiento celular, diferenciación, ciclo mitótico y transformación oncogénica. CD45 contiene un dominio extracelular, un único segmento transmembrana y dos dominios catalíticos intracitoplasmáticos en tándem, por lo que pertenece a las PTP de tipo receptor. Existen varias isoformas de CD45: CD45RA, CD45RB, CD45RC, CD45RAB, CD45RAC, CD45RBC, CD45RO, CD45R (ABC). Las isoformas A, B y C de las variantes de empalme de CD45 se expresan de forma diferencial en muchos subconjuntos de leucocitos. A pesar de la existencia de diferentes isoformas de CD45, comparten secuencias comunes, lo que significa que todas las isoformas pueden ser atacadas por un único anticuerpo.

La región intracelular (COOH-terminal) de CD45 contiene dos dominios catalíticos PTP, y la región extracelular es muy variable debido al empalme alternativo de los exones 4, 5 y 6 (designados A, B y C, respectivamente), además de diferentes niveles de glicosilación. Las isoformas CD45 detectadas son específicas del tipo celular y estado de maduración y activación. En general, la forma larga de la proteína (A, B o C) se expresa en los linfocitos B naïve o en reposo y la forma madura o truncada de CD45 (RO) se expresa en los linfocitos B activados o maduros/memoria.

La secuencia humana de CD45 está disponible en UniProt número de entrada P08575 y se proporciona en la presente en la SEQ ID NO: 127, o aminoácidos 24-1304 de la SEQ ID NO: 127, carece del péptido señal. La secuencia de aminoácidos de los dominios CD45 humanos 1-4 del dominio extracelular se proporciona en la SEQ ID NO: 128.

La versión murina de CD45 se proporciona en la entrada UniProt P06800.

La versión de mono cynomolgus de CD45 se proporciona en la presente como la SEQ ID NO: 129 (Figura 21).

En una forma de realización, el CD45 unido por el anticuerpo de la presente invención es un CD45 de mamífero. En una forma de realización particularmente preferida, CD45 se refiere a CD45 humano y variantes naturales e isoformas del mismo. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención es capaz de unirse a todas las isoformas de CD45 expresadas por una especie dada, por ejemplo, un anticuerpo se puede unir a todas las isoformas humanas de CD45. Con preferencia, un anticuerpo de la presente invención se puede unir tanto a CD45 humano como de mono cynomolgus, con preferencia a todas las isoformas de CD45 humano y de mono cynomolgus.

Anticuerpos - Descripción general

Un anticuerpo de la presente invención tiene al menos una especificidad para CD45. La "especificidad" de un anticuerpo indica la diana a la que se une el anticuerpo. La porción de un anticuerpo que se une a su diana se puede denominar sitio de unión al antígeno o, en algunas circunstancias, parátipo de un anticuerpo. La porción del antígeno unida por el anticuerpo se puede denominar como epítipo. La especificidad de un anticuerpo se puede establecer en términos del antígeno unido o a nivel de qué epítipo de un antígeno está unido. Los anticuerpos biparatópicos son un subconjunto de los anticuerpos biespecíficos, ya que los anticuerpos biespecíficos pueden reconocer dos epítopos diferentes en antígenos diferentes o dos epítopos diferentes en el mismo antígeno. En este último caso, se trata de anticuerpos biparatópicos. El número de sitios de unión que tiene un anticuerpo se puede denominar como su valencia, cada valencia representa un sitio de unión al antígeno del anticuerpo.

Los anticuerpos proporcionados por la presente invención son específicos para CD45. Por lo tanto, un anticuerpo de la presente invención comprende al menos un sitio de unión a antígeno, es decir, un parátipo, específico para CD45. Un anticuerpo que reconoce un único epítipo de CD45 se puede denominar anticuerpo que es monoespecífico para CD45. Un anticuerpo que reconoce dos epítopos diferentes de CD45 se puede denominar como anticuerpo biparatópico para CD45. La presente invención proporciona tanto anticuerpos que son monoespecíficos para CD45 como anticuerpos que son biparatópicos para CD45. Los anticuerpos biparatópicos específicos para CD45 de la invención pueden ser monovalentes para cada epítipo o multivalentes para cada epítipo.

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD45, pero no

se une significativamente a proteínas no CD45. En una forma de realización, dicha especificidad es solo en relación con los sitios de unión a antígeno del anticuerpo que reconocen CD45, pero el anticuerpo puede tener otros sitios de unión a antígeno con otras especificidades. Por ejemplo, en una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención tiene al menos un sitio de unión a antígeno que es específico para una molécula distinta de CD45, así como el específico para CD45. En una forma de realización, la especificidad adicional es para la albúmina sérica. En una forma de realización alternativa, todas las especificidades de un anticuerpo de la presente invención son para CD45.

En una forma de realización, el anticuerpo se une específicamente a CD45 de al menos una especie, pero no necesariamente a CD45 de todas las especies. Con preferencia, un anticuerpo de la invención se une específicamente a CD45 humano. En una forma de realización más preferida, un anticuerpo de la invención se une específicamente a CD45 humano y también a CD45 de al menos una o más especies. Con preferencia, el anticuerpo se une específicamente a CD45 de una especie utilizada en estudios con animales que ayudará en el desarrollo del anticuerpo como agente terapéutico. En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la invención se une específicamente tanto a CD45 humano como de mono. En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la invención se une específicamente tanto al CD45 humano como al de mono cynomolgus. En otra forma de realización particularmente preferida, destruye y/o reduce tanto las células humanas que expresan CD45 como las células de mono cynomolgus que expresan CD45.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención muestra unión trans, es decir, se une a más de una molécula de CD45 al mismo tiempo. Dicha unión

trans típicamente produce la reticulación de CD45 y por lo tanto representa una forma de realización preferida de la presente invención. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención muestra unión cis de CD45, de modo que se une específicamente a una molécula de CD45 con sus sitios de unión.

En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD45 e induce la multimerización de CD45. En una forma de realización puede ser capaz de multimerizar CD45 en la superficie de una célula diana. Los multímeros de CD45 son, en particular, estructuras de orden superior de más de un CD45. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a una porción extracelular de CD45 e induce la multimerización de CD45 en la superficie de una célula diana. En una forma de realización particularmente preferida, un multímero de CD45 comprende al menos tres moléculas de CD45. En una forma de realización, un multímero de CD45 puede comprender al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete o más moléculas de CD45 unidas por anticuerpos de la presente invención. Se pueden usar técnicas tales como fotometría de masas para identificar multímeros de CD45 complejados con anticuerpos de la presente invención y, por tanto, para medir la capacidad de un anticuerpo de la presente invención para generar multímeros de CD45.

Un grado de especificidad (o específico) para una molécula diana, en particular para CD45, tal como se emplea en la presente, se puede referir a cuando los compañeros o una parte relevante de los mismos en la interacción solo se reconocen entre sí o tienen una afinidad significativamente mayor entre sí en comparación con los no compañeros, por ejemplo, al menos 10 veces, al menos 100 veces, al menos 1,000 veces, al menos 10,000 veces, al menos 100,000 veces

o al menos 1,000,000 veces mayor afinidad que, por ejemplo, un nivel umbral de unión o unión a otra proteína no relacionada (por ejemplo, lisozima de clara de huevo de gallina). En una forma de realización, tales grados de especificidad son para CD45. En otra forma de realización, dicha especificidad no es solo para CD45, sino también para un epítipo particular de CD45 unido por un sitio de unión a antígeno, y en particular un parátipo, del anticuerpo, en comparación con otros epítipos de CD45.

En una forma de realización, la afinidad de un anticuerpo medida por la constante de disociación (K_D) es aproximadamente 100 nM o menor tal como aproximadamente 50 nM o menor, 20 nM o menor, 10 nM o menor, 1 nM o menor, 500 pM o menor, 250 pM o menor, 200 pM o menor, 100 pM o menor. En una forma de realización, la K_D es 50 pM o menor. En una forma de realización, al menos un parátipo del anticuerpo tiene tal afinidad por CD45. En otra forma de realización, el anticuerpo tiene dos parátipos, cada uno que tiene una especificidad diferente para CD45, donde todos los parátipos individualmente tienen tal afinidad por CD45. En una forma de realización, es la avidéz global del anticuerpo por CD45. En una forma de realización, la K_D de un parátipo para CD45 puede ser menor de 1 μ M, menor de 750 nM, menor de 500 nM, menor de 250 nM, menor de 200 nM, menor de 150 nM, menor de 100 nM, menor de 75 nM, menor de 50 nM, menor de 10 nM, menor de 1 nM, menor de 0,1 nM, menor de 10 pM, menor de 1 pM, o menor de 0,1 pM. En algunas formas de realización, la K_D es de aproximadamente 0,1 pM a aproximadamente 1 μ M. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención en general tiene ese nivel de afinidad por CD45. La afinidad se mide típicamente utilizando un ensayo de resonancia de plasmón superficial tal como un ensayo Biacore.

Anticuerpos derivados de 17415

(a) Descripción general de anticuerpos derivados de 17415 y regiones variables

Los anticuerpos preferidos de la invención son anticuerpos que comprenden al menos un sitio de unión al antígeno derivado del anticuerpo 17415 de conejo original descrito en la presente y en particular un par de regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivadas del anticuerpo 17415 de conejo original descrito en la presente. El anticuerpo 17415 de conejo original tiene una región variable de cadena liviana de la SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15. Las CDR de la región variable de cadena liviana del anticuerpo 17415 de conejo original son LCDR1, LCDR2, y LCDR3 que tienen respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 35. Las CDR de la región variable de cadena pesada del 17415 de conejo original son HCDR1, HCDR2, y HCDR3 que tienen respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 46, 47, y 48.

La referencia a un "anticuerpo derivado de 17415" incluye cualquiera de las secuencias específicas derivadas de 17415 expuestas en la presente, así como variantes de tales anticuerpos. La referencia a tales secuencias "derivadas de 17415" incluye las regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas mostradas en las Figuras 2 y 3, así como regiones variables con los conjuntos de CDR de CDR1, CDR2 y CDR3 mostrados en dichas Figuras. Las variantes de injerto específicas mostradas en las Figuras 2 y 3 son particularmente preferidas. También se prefieren los apareamientos de las variantes de injerto de región variable de cadena liviana y pesada generadas en los Ejemplos de la presente solicitud.

El anticuerpo 17415 de conejo original generado y los anticuerpos que comprenden las variantes de injerto

descritas en la presente para el anticuerpo 17415 son particularmente eficaces para destruir o reducir las células que expresan CD45. También tienen la ventaja adicional de que son capaces de unirse específicamente tanto al CD45 humano como al CD45 de mono cynomolgus, lo que los hace particularmente adecuados para su desarrollo como agentes terapéuticos. Con preferencia, son capaces de destruir o reducir tanto las células humanas como las de mono cynomolgus que expresan CD45.

En una forma de realización, un anticuerpo comprende uno o más sitios de unión a antígeno derivados de 17415 específicos para CD45. En una forma de realización particularmente preferida, comprende uno o más sitios de unión a antígeno formados a partir de un par de regiones variables de cadena liviana y pesada derivadas de 17415 humanizadas.

En una forma de realización, el anticuerpo es monoespecífico para CD45, de modo que el sitio o sitios de unión a antígeno derivados de 17415 presentes en el anticuerpo son los únicos específicos para CD45 que comprende el anticuerpo. En otra forma de realización, un anticuerpo de la invención tiene una pluralidad de parátomos que se unen a CD45, con uno de esos parátomos específicos para CD45 proporcionado por un sitio de unión a antígeno derivado de 17415. En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la invención es biparatópico para CD45, y uno de los parátomos es un sitio de unión a antígeno derivado de 17415. Un anticuerpo particularmente preferido de la presente invención que es biparatópico para CD45 es uno que comprende un parátomo derivado de 17415 y el otro que es un parátomo derivado de 17552 específico para CD45.

Por consiguiente, en una forma de realización particularmente preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que

comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42; y

(b) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 46, 52, 53 y 54, una CDR2 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs 47, 55, 56, y 57, y una CDR3 que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 48.

En una forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana comprende una LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NOs 33, 34, y 35 respectivamente. En otra forma de realización, ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 33, 34 y 39. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 33, 34 y 40. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 33, 34 y 41. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 33, 34 y 42.

En una forma de realización preferida, la región variable de cadena pesada comprende a HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NOs 46, 47, y 48 respectivamente. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 52, 55 y 48. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 53, 56 y 48. En otra forma de realización ellas comprenden las secuencias de las SEQ ID NOs 54, 57 y 48.

La humanización del anticuerpo 17415 de conejo original se describe en la presente. En una forma de realización

preferida, el sitio de unión a antígeno derivado de 17415 es un sitio de unión a antígeno humanizado. En una forma de realización particularmente preferida, los parátomos derivados de 17415 se han generado mediante la transferencia de las CDR de la región variable 17415 de conejo original (la secuencia donante) a regiones estructurales de un segundo anticuerpo (la secuencia aceptora). La humanización puede implicar también la transferencia de algunos residuos estructurales, así como las CDR de la secuencia donante.

Las regiones variables de cadena liviana humana preferidas para actuar como secuencias aceptoras para la estructura incluyen IGKV1-9 e IGKV4-1. Una secuencia aceptora particularmente preferida es una derivada de IGKV4-1. Con respecto a la cadena pesada, una secuencia aceptora particularmente preferida para las CDR es una estructura aceptora IGHV3-72. En una forma de realización preferida, un parátomo derivado de 17415 comprende una región variable de cadena liviana basada en una estructura aceptora IGKV4-1 y una región variable de cadena pesada basada en una estructura aceptora IGHV3-72.

La Tabla 1 resume las regiones variables de las cadenas liviana y pesada de 17415 original, las secuencias estructurales aceptoras utilizadas y las variantes de injerto específicas generadas derivadas del anticuerpo 17415 original. Las figuras 2 y 3 también proporcionan alineamientos de las diversas secuencias donantes y aceptoras originales, así como las variantes de injerto específicas generadas. Los aminoácidos individuales sombreados y en cursiva indican los residuos que son algo más que una transferencia directa de las secuencias CDR del anticuerpo 17415 original a la estructura aceptora humana, por ejemplo, que son residuos de la estructura donante que se han transferido así como las secuencias CDR o que son

residuos CDR que son diferentes a los de la CDR 17415 original.

Tabla 1 - Anticuerpo 17415 y variantes de injerto humanizadas

17415 - CADENAS LIVIANAS								
Cadena de anti-cuerpo	Secuencia de la región variable total	CDR1	CDR2	CDR3	FW1	FW2	FW3	FW4
Liviana 17415 (donante)	SEQ ID NO: 1 DVVLTQTP ASVSEPVG GTVTIKCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GQPPKLLI YAASNLAS GVSSRFKG SGSGTEFT LTISGVQC ADAATYYC QCTNYGSG YVNTFGGG TEVVVK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 35 QCTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 58 DVVLTQTP ASVSEPVG GTVTIKC	SEQ ID NO: 59 WYQQKPGQ PPKLLIY	SEQ ID NO: 60 GVSSRFKGS SGSGTEFTLT ISGVQCADA ATYYC	SEQ ID NO: 61 FGGGTEVV VK
IGKV1-9 (aceptora)	SEQ ID NO: 2 DIQLTQSP SFLSASVG DRVTITCR ASQGISSY LAWYQQKP GKAPKLLI YAASTLQS GVPSRFSG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QQLNSYPL TFGGGTKV EIK	SEQ ID NO: 36 RASQGISS YLA	SEQ ID NO: 37 AASTLQS	SEQ ID NO: 38 QQLNSYPL T	SEQ ID NO: 62 DIQLTQSP SFLSASVG DRVTITC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 64 GVPSRFSGS SGSGTEFTLT ISSLPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK

17415gL1	SEQ ID NO: 3 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QCTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 35 QCTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 66 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 70 GVPSRFRKG SGSGTEFTLT ISSLQPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK
17415gL2	SEQ ID NO: 4 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QSTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 39 QSTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 66 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 70 GVPSRFRKG SGSGTEFTLT ISSLQPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK
17415gL3	SEQ ID NO: 5 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QATNYGSG	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 40 QATNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 66 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 70 GVPSRFRKG SGSGTEFTLT ISSLQPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK

	YVNTFGGG TKVEIK							
17415gL4	SEQ ID NO: 6 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QVTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 41 QVTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 66 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 70 GVPSRFRKGS GSGTEFTLT ISSLPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK
17415gL5	SEQ ID NO: 7 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP EDFATYYC QQTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 42 QQTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 66 DVVLTQSP SFLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 63 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 70 GVPSRFRKGS GSGTEFTLT ISSLPEDF ATYYC	SEQ ID NO: 65 FGGGTKVE IK
17415gL6	SEQ ID NO: 8 DVVLTQSP SSLSASVG DRVITTCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GQAPKLLI YAASNLAS GVPSRFRKG SGSGTEFT LTISSLQP	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 35 QCTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 67 DVVLTQSP SSLSASVG DRVITTC	SEQ ID NO: 69 WYQQKPGQ APKLLIY	SEQ ID NO: 71 GVPSRFRKGS GSGTEFTLT ISSLPEDA ATYYC	SEQ ID NO: 72 FGGGTEVV IK

	EDAATYYC QCTNYGSG YVNTFGGG TEVVIK							
17415gL7	SEQ ID NO: 9 DVVLTQSP SSLSASVG DRVITITCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GQAPKLLI YAASNLAS GVPSRFGK SGSGTEFT LTISSLQP EDAATYYC QSTNYGSG YVNTFGGG TEVVIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 39 QSTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 68 DVVLTQSP SSLSASVG DRVITITC	SEQ ID NO: 69 WYQQKPGQ APKLLIY	SEQ ID NO: 71 GVPSRFGKS SGSGTEFTLT ISSLQPEDA ATYYC	SEQ ID NO: 72 FGGGTEVV IK
IGKV4-1 (acceptora)	SEQ ID NO: 10 DIVMTQSP DSLAVSLG ERATINCK SSQSVLYS SNNKNYLA WYQQKPGQ PPKLLIYW ASTRESGV PDRFSGSG SGTDFTLT ISSLQAED VAVYYCQQ YYSTPLTF GGGTKVEI K	SEQ ID NO: 43 KSSQSVLY SSNNKNYL A	SEQ ID NO: 44 WASTRES	SEQ ID NO: 45 QQYYSTPL T	SEQ ID NO: 73 DIVMTQSP DSLAVSLG ERATINC	SEQ ID NO: 74 WYQQKPGQ PPKLLIY	SEQ ID NO: 75 GVPDRFSGS SGSGTDFTLT ISSLQAEDV AVYYC	SEQ ID NO: 76 FGGGTKVE IK
17415gL13	SEQ ID NO: 11 DVVLTQSP DSLVSLSG ERVTINCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 35 QCTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 77 DVVLTQSP DSLVSLSG ERVTINC	SEQ ID NO: 74 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 79 GVPSRFGKS SGSGTEFTLT ISSLQAEDA ATYYC	SEQ ID NO: 81 FGGGTEVV IK

	GVPSRFGK SGSGTEFT LTISSLQA EDAATYYC QCTNYGSG YVNTFGGG TEVVIK							
17415gL14	SEQ ID NO: 12 DVVLTQSP DSLAVSLG ERATINCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFGK SGSGTDFT LTISSLQA EDVATYYC QCTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 35 QCTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 78 DVVLTQSP DSLAVSLG ERATINC	SEQ ID NO: 74 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 80 GVPSRFGKS GSGTDFTLT ISSLQAEDV ATYYC	SEQ ID NO: 76 FGGGTKVE IK
17415gL15	SEQ ID NO: 13 DVVLTQSP DSLAVSLG ERVITINCQ ASQSIYSN LAWYQQKP GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFGK SGSGTEFT LTISSLQA EDAATYYC QSTNYGSG YVNTFGGG TEVVIK	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 39 QSTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 77 DVVLTQSP DSLAVSLG ERVITINC	SEQ ID NO: 74 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 79 GVPSRFGKS GSGTEFTLT ISSLQAEDA ATYYC	SEQ ID NO: 81 FGGGTEVV IK
17415gL16	SEQ ID NO: 14 DVVLTQSP DSLAVSLG ERATINCQ ASQSIYSN LAWYQQKP	SEQ ID NO: 33 QASQSIYS NLA	SEQ ID NO: 34 AASNLAS	SEQ ID NO: 39 QSTNYGSG YVNT	SEQ ID NO: 78 DVVLTQSP DSLAVSLG ERATINC	SEQ ID NO: 74 WYQQKPGK APKLLIY	SEQ ID NO: 80 GVPSRFGKS GSGTDFTLT ISSLQAEDV ATYYC	SEQ ID NO: 76 FGGGTKVE IK

	GKAPKLLI YAASNLAS GVPSRFGK SGSGTDFT LTISSLQA EDVATYYC QSTNYGSG YVNTFGGG TKVEIK							
17415 - CADENAS PESADAS								
Cadena de anti- cuerpo	Secuen cia de la región variab le total	CDR1	CDR2	CDR3	FW1	FW2	FW3	FW4
Pesada 17415 (donante)	SEQ ID NO: 15 QEQLVESG GGLVQPEG SLTLTCTA SGLSFIGN YYICWVRQ APGKGLEW IGCIYTG SGSTYYAS WAKGRFTI SKTSSTTV TLQLNSLT AADTATYF CELDAYTY AFWGPCTL VTVSS	SEQ ID NO: 46 GLSFIGNY YIC	SEQ ID NO: 47 CIYTGSSG STYYASWA KG	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 82 QEQLVESG GGLVQPEG SLTLTCTA S	SEQ ID NO: 83 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 84 RFTISKTS TTVTQLNS LTAADTATY FCEL	SEQ ID NO: 85 WGPGLVT VSS
IGHV3-72 (aceptora)	SEQ ID NO: 16 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA SGFTFSDH YMDWVRQA PGKLEWV GRTRNKA	SEQ ID NO: 49 GFTFSDHY MD	SEQ ID NO: 50 RTRNKANS YTTEYAAS VKG	SEQ ID NO: 51 YFDY	SEQ ID NO: 86 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	SEQ ID NO: 87 WVRQAPGK GLEWVG	SEQ ID NO: 88 RFTISRDDS KNSLYLQMN SLKTEDTAV YYCAR	SEQ ID NO: 89 WQGGLVT VSS

	SYTTEYAA SVKGRFTI SRDDSKNS LYLQMNSL KTEDTAVY YCARYFDY WGQGT LVT VSS							
17415gH1	SEQ ID NO: 17 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA SGLSFIGN YYICWVRQ APGKGLEW IGCIYTG SGSTYYAS WAKGRFTI SKDSSKTS VYLQMNSL KTEDTAVY YCELDAYT YAFWGQGT LVTVSS	SEQ ID NO: 46 GLSFIGNY YIC	SEQ ID NO: 47 CIYTGSSG STYYASWA KG	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 90 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA S	SEQ ID NO: 91 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 92 RFTISKDSS KTSVYLQMN SLKTEDTAV YYCEL	SEQ ID NO: 89 WGQGT LVT VSS
17415gH2	SEQ ID NO:18 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA SGLSFIGN YYISWVRQ APGKGLEW IGSIYTG SGSTYYAS WAKGRFTI SKDSSKTS VYLQMNSL KTEDTAVY YCELDAYT YAFWGQGT LVTVSS	SEQ ID NO: 52 GLSFIGNY YIS	SEQ ID NO: 55 SIYTGSSG STYYASWA KG	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 90 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA S	SEQ ID NO: 91 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 92 RFTISKDSS KTSVYLQMN SLKTEDTAV YYCEL	SEQ ID NO: 89 WGQGT LVT VSS
17415gH3	SEQ ID NO: 19 EVQLVESG GGLVQPGG	SEQ ID NO: 53 GLSFIGNY YIA	SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 90 EVQLVESG GGLVQPGG	SEQ ID NO: 91 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 92 RFTISKDSS KTSVYLQMN	SEQ ID NO: 89 WGQGT LVT VSS

	SLRLSCTA SGLSFIGN YYIAWVRQ APGKGLEW IGAIYTGS SGSTYYAS WAKGRFTI SKDSSKTS VYLQMNSL KTEDTAVY YCELDAYT YAFWGQGT LVTVSS		AIYTGSSG STYYASWA KG		SLRLSCTA S		SLKTEDTAV YYCEL	
17415gH4	SEQ ID NO: 20 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA SGLSFIGN YYIVWVRQ APGKGLEW IGVIYTGS SGSTYYAS WAKGRFTI SKDSSKTS VYLQMNSL KTEDTAVY YCELDAYT YAFWGQGT LVTVSS	SEQ ID NO: 54 GLSFIGNY YIV	SEQ ID NO: 57 VIYTGSSG STYYASWA KG	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 90 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA S	SEQ ID NO: 91 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 92 RFTISKDSS KTSVYLQMN SLKTEDTAV YYCEL	SEQ ID NO: 89 WGQGTlVT VSS
17415gH5	SEQ ID NO: 21 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA SGLSFIGN YYICWVRQ APGKGLEW IGCIYTGS SGSTYYAS WAKGRFTI SKDSSTSV YLQMNslK TEDTAVYY CELDAYTY AFWGQGTl VTVSS	SEQ ID NO: 46 GLSFIGNY YIC	SEQ ID NO: 47 CIYTGSSG STYYASWA KG	SEQ ID NO: 48 DAYTYAF	SEQ ID NO: 90 EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCTA S	SEQ ID NO: 91 WVRQAPGK GLEWIG	SEQ ID NO: 93 RFTISKDSS TSVYLQMNS LKTEDTAVY YCEL	SEQ ID NO: 89 WGQGTlVT VSS

17415gH6	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
	NO: 22	NO: 52	NO: 55	NO: 48	NO: 90	NO: 91	NO: 93	NO: 89
	EVQLVESG	GLSFIGNY	SIYTGSSG	DAYTYAF	EVQLVESG	WVRQAPGK		WGQGTLVT
	GGLVQPGG	YIS	STYYASWA		GGLVQPGG	GLEWIG	RFTISKDSS	VSS
	SLRLSCTA		KG		SLRLSCTA		TSVYLQMNS	
	SGLSFIGN				S		LKTEDTAVY	
	YYISWVRQ						YCEL	
	APGKGLEW							
	IGSIYTG							
	SGSTYYAS							
	WAKGRFTI							
	SKDSSTSV							
	YLMNSLK							
	TEDTAVYY							
	CELDAYTY							
	AFWGQGT							
	LVTVSS							

A continuación se exponen varios ejemplos de secuencias derivadas de 17415 preferidas:

(b) Variantes de injerto de cadena liviana 17415 preferidas que comprenden estructuras derivadas de IGKV4-1/ IGKJ4

En una forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana comprende la LCDR1, LCDR2, y LCDR3 del anticuerpo 17415 de conejo. En una forma de realización preferida alternativa, la LCDR1, LCDR2, y LCDR3 son las del anticuerpo 17415 de conejo, excepto que la LCDR3 incluye la mutación C90S.

En una forma de realización preferida una variante de injerto de la región variable de cadena liviana de 17415 humanizado comprende tal conjunto de LCDR1, LCDR2, y LCDR3 derivado del anticuerpo 17415 de conejo, con una estructura derivada IGKV4-1/ IGKJ4. En una forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42, donde las regiones estructurales son una Estructura derivada IGKV4-1/IGKJ4.

En una forma de realización preferida, además de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de cadena liviana 17415, se retienen uno o más residuos donantes de la estructura de la cadena liviana de anticuerpos de conejo 17415 en una o más posiciones del grupo que comprende los residuos 2 (Valina, V2), 4 (Leucina, L4), 12 (Serina, S12), 19 (Valina, V19), 60 (Serina, S60), 63 (Lisina, K63), 70 (Ácido glutámico, E70), 83 (Alanina, A83), 85 (Treonina, T85), 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108).

En una forma de realización, los residuos donantes 2 (Valina, V2), 4 (Leucina, L4) se retienen en la región variable de cadena liviana FWR1 del anticuerpo 17415 de

conejo. En una forma de realización, los residuos donantes (Valina, V2), 4 (Leucina, L4), 12 (serina, S12), 19 (Valina, V19), se retienen de 17415 en la FWR1. En una forma de realización alternativa, FWR1 corresponde a la secuencia aceptora FWR1 de IGKV4-1/IGKJ4.

En una forma de realización preferida, FWR2 corresponde a la secuencia aceptora FWR2 de IGKV4-1/IGKJ4.

En una forma de realización, los residuos donantes 60 (Serina, S60), 63 (Lisina, K63), 83 (Alanina, A83), y 85 (Treonina, T85) (y opcionalmente (Ácido glutámico, E70)) se retienen del anticuerpo 17415 de conejo en la región variable de cadena liviana FWR3. En una forma de realización, los residuos donantes 60 (Serina, S60), 63 (Lisina, K63), y 85 (Treonina, T85) se retienen de 17415 en la FWR3.

En una forma de realización, los residuos donantes 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108) se retienen del anticuerpo 17415 de conejo en la región variable de cadena liviana FWR4. En una forma de realización alternativa, FWR4 corresponde a la secuencia aceptora FWR4 de IGKV4-1/IGKJ4.

Los ejemplos de estructuras de cadena liviana preferidas basadas en la secuencia aceptora IGKV4-1 incluyen los de FWR1, FWR2, FWR3 y FWR4 respectivamente de las SEQ ID NOs 77, 74, 79 y 81. En otra forma de realización preferida, tienen las secuencias de las SEQ ID NOs: 78, 74, 80 y 76.

Los ejemplos de variantes de injerto de la región variable de cadena liviana derivada de 17415 particularmente preferidas que se pueden emplear incluyen los de 17415gL13 (SEQ ID No: 11), 17415gL14 (SEQ ID No: 12), 17415gL15 (SEQ ID No: 13), y 17415gL16 (SEQ ID No: 14).

(c) Variantes de injerto de cadena liviana 17415 preferidas que comprenden una Estructura derivada de IGKV1-9/IGKJ4

En una forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana derivada del anticuerpo 17415 de conejo original comprende una CDR1 que comprende una secuencia de

la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42, donde las regiones estructurales se deriva de una estructura aceptora IGKV1-9.

En tal forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana comprende las LCDR1, LCDR2, y LCDR3 del anticuerpo 17415 de conejo. En una forma de realización preferida alternativa, las LCDR1, LCDR2, y LCDR3 son las del anticuerpo 17415 de conejo, excepto que la LCDR3 incluye la mutación C90S. Alternativamente C90 se puede mutar a A (Alanina), V (Valina), o Q (Glutamina).

En una forma de realización, los residuos donantes de la estructura de cadena liviana del anticuerpo 17415 de conejo se retienen en una o más de las posiciones 2 (Valina, V2), 3 (Valina, V3) y 63 (Lisina, K63) en la región variable de cadena liviana. En una forma de realización, se retienen todos estos residuos.

En otra forma de realización, los residuos donantes de la estructura de cadena liviana del anticuerpo 17415 de conejo se retienen en una o más posiciones seleccionadas de 2 (Valina, V2), 3 (Valina, V3), 10 (Serina, S10), 42 (Glutamina, Q42), 63 (Lisina, K63), 83 (Alanina, A83), 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108). En una forma de realización preferida, se retienen todos estos residuos de la estructura donante.

En una forma de realización en FWR1, los residuos donantes de la estructura se retienen en las posiciones 2 (Valina, V2), y 3 (Valina, V3). En una forma de realización particularmente preferida en FWR1, los residuos donantes de la estructura se retienen en las posiciones 2 (Valina, V2), 3 (Valina, V3), y 10 (Serina, S10).

En una forma de realización, en FWR2 se retiene un residuo donante en la posición 42 (Glutamina, Q42). En una

forma de realización alternativa, la FWR2 es la misma que la de la secuencia aceptora y no se retienen residuos donantes en FWR2.

En una forma de realización, en FWR3 se retienen residuos donantes en las posiciones 63 (Lisina, K63) y 83 (Alanina, A83).

En una forma de realización, en FWR4 se retienen residuos donantes en las posiciones 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108). En otra forma de realización, la secuencia de FWR4 es la misma que la FWR4 de la secuencia aceptora.

Los ejemplos de regiones de la estructura donante particularmente preferidas para retener son aquellas en todas las posiciones 2 (Valina, V2), 3 (Valina, V3), 10 (Serina, S10), 42 (Glutamina, Q42), 63 (Lisina, K63) 83 (Alanina, A83), 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108). En una forma de realización preferida adicional, la LCDR3 entonces incluye la mutación C90S. En otra forma de realización, no la incluye.

En una forma de realización preferida, la estructura aceptora comprende una FWR1, FWR2, FWR3 y FWR4 respectivamente de las SEQ ID NOs: 58, 59, 60 y 61. En otra las FWR comprenden respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 66, 63, 70 y 65. En otra forma de realización comprenden respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 67, 69, 71, y 72. En otra forma de realización, comprenden respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 68, 69, 71 y 72.

Los ejemplos de variantes de injerto de la región variable de cadena liviana preferidas incluyen las de 17415gL1 a 17415gL7 (respectivamente SEQ ID Nos: 3 a 9). Un ejemplo de una variante de injerto de la cadena liviana particularmente preferida es la de la SEQ ID NO: 8 (17415gL6). Un ejemplo de una variante de injerto de la

cadena liviana particularmente preferida adicional es la de la SEQ ID NO: 9 (17415gL6). También se proporcionan las de las SEQ ID NOs: 3 a 7 (17415gL1 a 17415gL5).

(d) Variantes de injerto de cadena pesada 17415 preferidas que comprende una estructura derivada de IGV3-72

En una forma de realización preferida adicional, se genera una variantes de injerto de la cadena pesada derivada de 17415 usando una estructura aceptora de la región IGHV3-72/IGHJ4 J. En consecuencia, en una forma de realización preferida, una región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 46, 52, 53 y 54, una CDR2 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs 47, 55, 56, y 57, y una CDR3 que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 48, donde la estructura aceptora se deriva de IGHV3-72/IGHJ4.

En una forma de realización una región variable de cadena pesada derivada de 17415 incluye la HCDR1 del anticuerpo 17415 de conejo. En otra forma de realización, el residuo final del HCDR1 se cambia de C (cisteína) a S (Serina), A (Alanina), o V (Valina).

En una forma de realización una región variable de cadena pesada derivada de 17415 incluye la HCDR2 del anticuerpo 17415 de conejo. En otra forma de realización, el primer residuo del HCDR2 se cambia de C (cisteína) a S (Serina), A (Alanina), o V (Valina).

En una forma de realización, la región variable de cadena pesada derivada incluye la HCDR3 original del anticuerpo 17415 de conejo.

Las combinaciones de CDR particularmente preferidas se muestran en la Figura 3. Cualquiera de las combinaciones de tres CDR de cadena pesada mostradas para una variante individual se pueden emplear en una variante de la región variable de cadena pesada derivada de 17415. En particular,

en una forma de realización, una variante de la cadena pesada derivada de 17415 tiene las CDR de 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En otra forma de realización, tiene las de 17415gH2 (SEQ ID No: 18). En una forma de realización adicional, tiene las de 17415gH3 (SEQ ID No: 19). En una forma de realización adicional, tiene las de 17415gH4 (SEQ ID No: 20). En otra forma de realización, tiene las de 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En otra forma de realización, tiene las CDR de 17415gH6 (SEQ ID No: 22).

En una forma de realización preferida, una variante de la cadena pesada derivada de 17415 tiene la FWR1 de IGHV3-72 aceptora, pero se retiene un residuo donante de la estructura de la cadena pesada del anticuerpo 17415 de conejo en la posición 23 (Treonina, T23).

En una forma de realización preferida, una variante de la cadena pesada derivada de 17415 tiene la FWR2 de una IGHV3-72 aceptora, pero se retiene un residuo donante en la posición 49 (Isoleucina, I49).

En una forma de realización preferida, una variante de la cadena pesada derivada de 17415 tiene la FWR3 de una IGHV3-72 aceptora, pero se retienen residuos donantes en las posiciones 74 (Lisina, K74), 76 (Serina, S76), 79 (Treonina, T79), 81 (Valina, V81), 99 (Ácido glutámico, E99) y 100 (Leucina, L100).

En una forma de realización preferida, una variante de la cadena pesada derivada de 17415 tiene la FWR4 de una IGHV3-72/ IGHJ4 aceptora, pero sin cambios de secuencia adicionales.

Las estructuras particularmente preferidas se muestran en la Figura 3. Cualquiera de las combinaciones de FWR1, FWR2, FWR3, y FWR4 para una variante individual mostrada en la Figura 3 se pueden emplear en una región variable de cadena pesada derivada de 17415.

En consecuencia, en una forma de realización preferida, la estructura aceptora para una región variable de cadena pesada derivada de 17415 tiene una FWR1, FWR2, FWR3, y FWR4 respectivamente que comprende las secuencias de las SEQ ID NOS: 90, 91, 92, y 89. En otra forma de realización comprenden las secuencias respectivamente de las SEQ ID NOS: 90, 91, 93 y 89.

Las variantes de injerto de la cadena pesada derivada de 17415 particularmente preferidas se muestran en la Figura 3. En una forma de realización preferida, se puede emplear la región variable de cadena pesada de 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En otra forma de realización, se emplea la de la 17415gH2 (SEQ ID No: 18). En otra forma de realización, se emplea la de la 17415gH3 (SEQ ID No: 19). En una forma de realización adicional, se emplea la de la 17415gH4 (SEQ ID No: 20). En otra forma de realización, se puede emplear la de 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En otra forma de realización, se puede emplear la de 17415gH6 (SEQ ID No: 22).

(e) Otros apareamientos de pares de cadenas ligeras y pesadas derivadas de 17415 preferidos

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una región variable de cadena liviana derivada de 17415 y una región variable de cadena pesada derivada de 17415. En una forma de realización, la región variable de cadena liviana es cualquiera de las mostradas en la Figura 2 y la región variable de cadena pesada liviana es cualquiera de las mostradas en la Figura 3. Los apareamientos de la región variable de cadena liviana y pesada particularmente preferidos son los de los Ejemplos de la presente solicitud. También se prefieren los conjuntos de CDR de seis CDR (LCDR1, LCDR2, y LCDR3 y HCDR1, HCDR2, y HCDR3 de los apareamientos de la región variable de cadena liviana y pesada específicos empleados en los Ejemplos de la presente solicitud.

En formas de realización particularmente preferidas, la región variable de cadena liviana es una variante de injerto de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7 (SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos 11 a 14). En formas de realización particularmente preferidas, la región variable de cadena pesada es una variante de injerto de 17415gH1 a H6 (respectivamente SEQ ID Nos: 17 a 22).

En una forma de realización, 17415gL6 (SEQ ID No: 8) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6 (respectivamente SEQ ID Nos: 17 a 22). En otra forma de realización 17415gL7 (SEQ ID No: 9) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6 (respectivamente SEQ ID Nos: 17 a 22). En otra forma de realización, 17415gL13 (SEQ ID No: 11) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6 (respectivamente SEQ ID Nos: 17 a 22). En otra forma de realización, 17415gL14 (SEQ ID No: 12) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6. En otra forma de realización, 17415gL15 (SEQ ID No: 13) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6. En otra forma de realización, 17415gL16 (SEQ ID No: 14) se aparee con cualquiera de 17415gH1 a H6 (respectivamente SEQ ID Nos: 17 a 22).

En una forma de realización 17415gH1 (SEQ ID No: 17) se aparee con cualquiera de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7 (SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos: 11 a 14). En una forma de realización 17415gH2 (SEQ ID No: 18) se aparee con cualquiera de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7 (SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos: 11 a 14). En una forma de realización 17415gH3 (SEQ ID No: 19) se aparee con cualquiera de 17415gL6, 17415gL7, o 17415gL13 a 17415gL16. En una forma de realización 17415gH4 (SEQ ID No: 20) se aparee con cualquiera de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7 (SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos: 11 a 14). En una forma de realización 17415gH5 (SEQ ID No: 21) se aparee con cualquiera de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7

(SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos: 11 a 14). En una forma de realización 17415gH6 (SEQ ID No: 22) se aparea con cualquiera de 17415gL6 (SEQ ID No: 8), 17415gL7 (SEQ ID No: 9), o 17415gL13 a 17415gL16 (respectivamente SEQ ID Nos: 11 a 14).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende el par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL7 (SEQ ID No: 9) y 17415gH6 (SEQ ID No: 22). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL15 (SEQ ID No: 13) y 17415gH6 (SEQ ID No: 22).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL16 (SEQ ID No: 14) y 17415gH6 (SEQ ID No: 22).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH4 (SEQ ID No: 20).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL2 (SEQ ID No: 4) y 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL3 (SEQ ID No: 5) y 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL4 (SEQ ID No: 6) y 17415gH1 (SEQ ID No: 17). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno

derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada. 17415gL5 (SEQ ID No: 7) y 17415gH1 (SEQ ID No: 17).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH2 (SEQ ID No: 18). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH3 (SEQ ID No: 19). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH4 (SEQ ID No: 20).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL1 (SEQ ID No: 3) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada. 17415gL6 (SEQ ID No: 8) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL7 (SEQ ID No: 9) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL13 (SEQ ID No: 11) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL14 (SEQ ID No: 12) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL15 (SEQ ID No: 13) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21). En una forma de realización, un sitio de unión

al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL16 (SEQ ID NO: 14) y 17415gH5 (SEQ ID No: 21).

En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL7 (SEQ ID No: 9) y 17415gH6 (SEQ ID No: 22). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL15 (SEQ ID No: 13) y 17415gH6 (SEQ ID No: 22). En una forma de realización, un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 comprende un par de regiones variables de cadena liviana y pesada 17415gL16 (SEQ ID No: 14) y 17415gH6.

(f) Variantes y derivados

Además de las secuencias específicas derivadas de 17415 descritas en la presente, también se proporcionan variantes y derivados de las secuencias específicas descritas en otras partes del presente documento. Dicha variante conservará la capacidad de unirse específicamente a CD45. Con preferencia, conservará la capacidad de destruir o reducir las células que expresan CD45.

Anticuerpos derivados de 17552

(a) Descripción general de anticuerpos derivados de 17552 y las regiones variables

Otros anticuerpos preferidos de la invención son anticuerpos que comprenden al menos un sitio de unión a antígeno derivado del anticuerpo 17552 de conejo descrito en la presente y, en particular, un par de las regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivadas del anticuerpo 17552 de conejo descrito en la presente. Las secuencias de región variable de cadena liviana y pesada originales del anticuerpo 17552 de conejo se proporcionan

respectivamente como SEQ ID Nos: 23 y 27. Las regiones variables de cadena liviana LCDR1, LCDR2 y LCDR3 del anticuerpo de conejo original se proporcionan como SEQ ID Nos: 94, 56 y 96. La región variable de cadena pesada HCDR1, HCDR2 y HCDR3 del anticuerpo de conejo original se proporciona como SEQ ID Nos: 100, 101 y 102.

En una forma de realización preferida, un anticuerpo derivado de 17552 tiene los conjuntos de CDR de cadena liviana y pesada de uno de los anticuerpos de los Ejemplos de la presente solicitud, que incluye las especificidades derivadas de 17552 en los anticuerpos biparatópicos expuestos en la Figura 17. En otra forma de realización preferida, comprende las regiones variables de cadena liviana y pesada de las especificidades derivadas de 17552 mostradas en la Figura 17.

El anticuerpo 17552 de conejo original generado y los anticuerpos que comprenden las variantes de injerto descritas en la presente tienen la ventaja de que son capaces de unirse específicamente tanto al CD45 humano como al CD45 de mono cynomolgus, lo que los hace particularmente adecuados para su desarrollo como agente terapéutico. Los sitios de unión a antígeno derivados de 17552 también tienen la ventaja adicional de que, cuando se usan junto con una segunda especificidad contra CD45 que provoca la destrucción o reducción de CD45, la especificidad 17552 actúa como una especificidad "auxiliar, lo que potencialmente refuerza la eficacia de la otra especificidad. Por lo tanto, la especificidad derivada 17552 es particularmente eficaz en anticuerpos con más de un parátipo o especificidad para CD45. En una forma de realización aún más preferida, la especificidad derivada 17552 se utiliza como parte de un anticuerpo que es biparatópico para CD45. En una forma de realización especialmente preferida, la presente invención proporciona anticuerpos biparatópicos que comprenden las

especificidades derivadas 17415 y 17552, la especificidad 17415 actúa como especificidad "destructiva" y la especificidad 17552 actúa como especificidad "auxiliar".

La humanización del anticuerpo 17552 de conejo original se describe en la presente. En una forma de realización preferida, el parátipo derivado de 17552 presente en un anticuerpo de la invención es un sitio de unión a antígeno humanizado. En una forma de realización particularmente preferida, los parátipos derivados de 17552 se han generado mediante la transferencia de las CDR de la región variable de 17552 (la secuencia donante) a regiones estructurales de un segundo anticuerpo (la secuencia aceptora). La humanización puede implicar también la transferencia de algunos residuos estructurales, así como las CDR de la secuencia donante.

En consecuencia, en una forma de realización particularmente preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96; y

(b) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 102 a 105.

Las regiones variables de cadena liviana humana preferidas para actuar como secuencias aceptoras para la estructura incluyen IGKV1-8/IGKJ4. Con respecto a la cadena

pesada, una secuencia aceptora particularmente preferida para las CDR es un estructura aceptora IGHV4-4/IGHJ4. En una forma de realización preferida, un parátipo derivado 17552 comprende una región variable de cadena liviana basada en un estructura aceptora IGKV1-8 y una región variable de cadena pesada basada en un estructura aceptora IGHV4-4.

En la Tabla 2 se resumen las regiones variables de cadena liviana y pesada de 17552 original, las secuencias aceptoras estructurales utilizadas y las variantes de injerto específicas generadas derivadas del anticuerpo 17552 original. La Figura 4 también proporciona alineamientos de las diversas secuencias donantes y aceptoras originales, así como las variantes de injerto específicas generadas. Los aminoácidos individuales sombreados y en cursiva indican los residuos que son más que solo una transferencia directa de las secuencias CDR del anticuerpo 17552 original a la estructura aceptora humana, por ejemplo, que son residuos de la estructura donante que se han transferido así como las secuencias CDR o que son residuos CDR que son diferentes a los de la CDR 17552 original.

Tabla 2 - Anticuerpo 17552 y variantes de injerto humanizadas

17552 - CADENAS LIVIANAS								
Cadena del anti-cuerpo	Secuencia de la región variable total	CDR1	CDR2	CDR3	FW1	FW2	FW3	FW4
Liviana	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
17552	NO: 23	NO: 94	NO: 95	NO: 96	NO:	NO:107	NO:	NO:
(donante)	ALVMTQTP	QASQSITT	RASTLAS	QEYSSSD	106	WYQQKPGQR	108	109
	ASVSAAVG	ALA		VDNT		PKLLIY	GVSSRFEG	FGGGTEVV
	GTVTINCQ						SGSGTQFT	VK

	ASQSITTA LAWYQQKP GQRPKLLI YRASTLAS GVSSRFEG SGSGTQFT LTISGVEC DDAATYYC QEYSSSD VDNTFGGG TEVVVK				ALVMTQTF ASVSAAVG GTVTINC		LTISGVEC DDAATYYC	
IGKV1-8 (acep- tora)	SEQ ID NO: 24 AIRMTQSP SSFSASTG DRVITITCR ASQGISSY LAWYQQKP GKAPKLLI YAASTLQS GVPSRFSG SGSGTDFT LTISCLQS EDFATYYC QQYYSYPL TFGGGTKV EIK	SEQ ID NO: 97 RASQGISS YLA	SEQ ID NO: 98 AASTLQS	SEQ ID NO: 99 QQYYSYPL T	SEQ ID NO: 110 AIRMTQSP SSFSASTG DRVITIT	SEQ ID NO: 111 WYQQKPGKA PKLLIY	SEQ ID NO: 112 GVPSRFSG SGSGTDFT LTISCLQS EDFATYYC	SEQ ID NO: 113 FGGGTKVE IK
17552gL1	SEQ ID NO: 25 ALVMTQSP SSFSASTG DRVITITCQ ASQSITTA LAWYQQKP GKAPKLLI YRASTLAS GVPSRFEG SGSGTDFT LTISSLQS EDFATYYC QEYSSSD VDNTFGGG TKVEIK	SEQ ID NO: 94 QASQSITT ALA	SEQ ID NO: 95 RASTLAS	SEQ ID NO: 96 QEYSSSD VDNT	SEQ ID NO: 114 ALVMTQSP SSFSASTG DRVITITC	SEQ ID NO: 111 WYQQKPGKA PKLLIY	SEQ ID NO: 115 GVPSRFEG SGSGTDFT LTISSLQS EDFATYYC	SEQ ID NO: 113 FGGGTKVE IK
17552gL2	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 94	SEQ ID NO: 95 RASTLAS	SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:

	ALVMTQSP SSFSASTG DRVITITCQ ASQSITTA LAWYQQKP GKAPKLLI YRASTLAS GVPSRFSG SGSGTDFT LTISSLQS EDFATYYC QEYSSSD VDNTFGGG TKVEIK	QASQSITT ALA		QEYSSSD VDNT	114 ALVMTQSP SSFSASTG DRVITITC	111 WYQQKPGKA PKLLIY	112 GVPSRFSG SGSGTDFT LTISSLQS EDFATYYC	113 FGGGTKVE IK
17552 - CADENAS PESADAS								
Cadena del anticue rpo	Secuen cia de la región variab le total	CDR1	CDR2	CDR3	FW1	FW2	FW3	FW4
Pesada 17552 (donan- te)	SEQ ID NO: 27 QSVEESGG RLVTPGTP LTLTCTVS GFSLSDYY MIWVRQAP GKGLEYIG AISYGGSA YYLSWAKG RFTISKTS TTVDLMIT SPTTEDTA TYFCTRGI WDGGSGGP WGYFDIWG PGTLVTVS S	SEQ ID NO: 100 GFSLSDYY MI	SEQ ID NO: 101 AISYGGSA YYLSWAKG	SEQ ID NO: 102 GIWDGGSG GPWGYFDI	SEQ ID NO: 115 QSVEESGG RLVTPGTP LTLTCTVS	SEQ ID NO: 116 WVRQAPGKG LEYIG	SEQ ID NO: 117 RFTISKTS TTVDLMIT SPTTEDTA TYFCTR	SEQ ID NO: 118 WGPGLVLT VSS
IGHV4-4 (acep- tora)	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 51 YFDY	SEQ ID NO: 119	SEQ ID NO: 120	SEQ ID NO: 121	SEQ ID NO: 122

	QVQLQESG PGLVKPSG TSLTCAV SGGSISSS NWWSWVRQ PPGKGLEW IGEIHSG STNYPNPSL KSRVTISV DKSKNQFS LKLSSVTA ADTAVYYC ARYFDYWG QGTLVTVS S	GGSISSN WWS	EIYHSGST NYPNPSLKS		QVQLQESG PGLVKPSG TSLTCAV S	WVRQPPGKG LEWIG	RVTISVDK SKNQFSLK LSSVTAAD TAVYYCAR	WGQGTLLV VSS
17552gH1	SEQ ID NO: 29 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV SGFSLSDY YMIWVRQP PGKGLIYI GAISYGGG AYYLSWAK GRFTISKD SSKNQVSL KLSSVTAA DTAVYYCT RGIWDGGS GGPWGYFD IWGQGTIV TVSS	SEQ ID NO: 100 GFSLSDY MI	SEQ ID NO: 101 AISYGGSA YYLSWAKG	SEQ ID NO: 102 GIWDGGS GPWGYFDI	SEQ ID NO: 123 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV S	SEQ ID NO: 124 WVRQPPGKG LEYIG	SEQ ID NO: 125 RFTISKDS SKNQVSLK LSSVTAAD TAVYYCTR	SEQ ID NO: 126 WGQGTLLV VSS
17552gH2	SEQ ID NO: 30 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV SGFSLSDY YMIWVRQP PGKGLIYI GAISYGGG AYYLSWAK GRFTISKD SSKNQVSL KLSSVTAA DTAVYYCT	SEQ ID NO: 100 GFSLSDY MI	SEQ ID NO: 101 AISYGGSA YYLSWAKG	SEQ ID NO: 103 GIWEGGS GPWGYFDI	SEQ ID NO: 123 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV S	SEQ ID NO: 124 WVRQPPGKG LEYIG	SEQ ID NO: 125 RFTISKDS SKNQVSLK LSSVTAAD TAVYYCTR	SEQ ID NO: 126 WGQGTLLV VSS

	RGIWEGGS GGPWGYFD IWGQGTLV TVSS							
17552gH3	SEQ ID NO: 31 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV SGFSLSDY YMIWVRQP PGKGLEYI GAISYGGS AYLSWAK GRFTISKD SSKNQVSL KLSSVTAA DTAVYYCT RGIWDSGS GGPWGYFD IWGQGTLV TVSS	SEQ ID NO: 100 GFSLSDDY MI	SEQ ID NO: 101 AISYGGS YYLSWAKG	SEQ ID NO: 104 GIWDSGSG GPWGYFDI	SEQ ID NO: 123 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV S	SEQ ID NO: 124 WVRQPPGKG LEYIG	SEQ ID NO: 125 RFTISKDS SKNQVSLK LSSVTAA TAVYYCTR	SEQ ID NO: 126 WGQGTLLV VSS
17552gH4	SEQ ID NO: 32 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV SGFSLSDY YMIWVRQP PGKGLEYI GAISYGGS AYLSWAK GRFTISKD SSKNQVSL KLSSVTAA DTAVYYCT RGIWDAGS GGPWGYFD IWGQGTLV TVSS	SEQ ID NO: 100 GFSLSDDY MI	SEQ ID NO: 101 AISYGGS YYLSWAKG	SEQ ID NO: 105 GIWDAGSG GPWGYFDI	SEQ ID NO: 123 EVQLQESG PGLVKPSG TSLTCTV S	SEQ ID NO: 124 WVRQPPGKG LEYIG	SEQ ID NO: 125 RFTISKDS SKNQVSLK LSSVTAA TAVYYCTR	SEQ ID NO: 126 WGQGTLLV VSS

(b) Variantes de injerto de cadena liviana de 17552 preferidas que comprenden una estructura derivada de IGKV11-8

En una forma de realización particularmente preferida, una región variable de cadena liviana derivada de 17552 comprende las CDR originales de la región variable de cadena liviana de 17552. En particular, comprende una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96. Tal conjunto de CDR se puede combinar con cualquiera de las regiones estructurales expuestas a continuación.

En una forma de realización preferida, la región variable de cadena liviana derivada de 17552 tiene una región estructural IGKV1-8/IGKJ4, con la excepción de que se retienen uno o más residuos del grupo que comprende Leucina (L2), Valina (V3) y Ácido glutámico (E63). En una forma de realización, se retienen Leucina (L2) y Valina (V3). En una forma de realización, se retienen Leucina (L2), Valina (V3) y Ácido glutámico (E63).

En una forma de realización, un residuo de cisteína libre en la posición 77 (C77) en FWR3 se muta a Serina (C77S). En consecuencia, en una forma de realización se retienen Leucina (L2) y Valina (V3) de la secuencia donante y también está presente una modificación (C77S). En otra forma de realización, se retienen Leucina (L2), Valina (V3) y Ácido glutámico (E63) de la secuencia donante y también está presente una modificación (C77S).

En una forma de realización preferida, las secuencias estructurales FWR1, FWR2, FWR3, y FWR4 de la región variable de cadena liviana comprenden las SEQ ID Nos: 114, 111, 115, y 113 respectivamente.

En una forma de realización preferida adicional, las secuencias estructurales FWR1, FWR2, FWR3, y FWR4 de la región variable de cadena liviana comprenden las SEQ ID Nos: 114, 111, 112, y 113 respectivamente.

Una variante de injerto de cadena liviana derivada de 17552 particularmente preferida es 17552gL1 (SEQ ID No: 25). Otra variante de injerto de cadena liviana derivada de 17552 particularmente preferida es 17552gL2 (SEQ ID No: 26).

(b) Variantes de injerto de cadena pesada 17552 preferidas que comprenden la estructura derivada de IGHV4-4.

En una forma de realización particularmente preferida, una región variable de cadena pesada derivada de 17552 comprende las HCDR1 y HCDR2 originales de la región variable de cadena pesada de 17552. En una forma de realización preferida, también comprende la HCDR3 original de 17552. Alternativamente, en otras formas de realización preferidas, la HCDR3 tiene un cambio de secuencia de ácido aspártico (D) a ácido glutámico (E) en el cuarto aminoácido de la HCDR3. En otras formas de realización preferidas, tiene un cambio de secuencia de aminoácido de glicina (G) a serina (S) o alanina (A) en el quinto aminoácido de la CDR.

En una forma de realización preferida, una región variable de cadena pesada derivada de 17552 comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 102 a 105.

En una forma de realización, la región estructural de la región variable de cadena pesada derivada de 17552 tiene una región estructural donde FWR1 corresponde a la de la IGHV4-4 aceptora, excepto que el primer aminoácido Glutamina (Q1) se ha sustituido con ácido glutámico (E1), con Treonina (T23) retenida de la secuencia donante.

En una forma de realización, la FWR2 corresponde a la de la secuencia aceptora excepto que se ha retenido Tirosina (Y47) de la secuencia donante.

En una forma de realización, la FWR3 corresponde a la de la secuencia aceptora excepto que se retienen Fenilalanina

(F67), Lisina (K71), Serina (S73), Valina (V78) y Treonina (T96).

En una forma de realización, la FWR4 corresponde a la de la secuencia aceptora IGHV4-4/IGHJ4.

En una forma de realización, uno o más de los siguientes residuos se retienen de la secuencia donante 17552: Treonina (T23), 47 Tirosina (Y47), Fenilalanina (F67), Lisina (K71), Serina (S73), Valina (V78) y Treonina (T96). En una forma de realización preferida, se retienen todos estos residuos. En una forma de realización preferida adicional, se retienen todos estos residuos y Glutamina (Q1) se ha sustituido con Ácido glutámico (E1).

En una forma de realización particularmente preferida, las regiones FWR1, FWR2, FWR3, y FWR4 tienen respectivamente las secuencias de aminoácidos de las SEQ DI Nos: 123, 124, 125, y 126.

Una región variable de cadena pesada derivada de 17552 particularmente preferida es la de 17552gH1 (SEQ ID No: 29). Otra variante preferida es 17552gH2 (SEQ ID No: 30). Una variante preferida adicional es 17552gH3 (SEQ ID No: 31). Una variante preferida adicional es 17552gH4 (SEQ ID No: 32).

(c) Apareamientos de cadena liviana y pesada derivados de 17552 preferidos

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención comprende regiones variables de la cadenas liviana y pesada derivada de 17552, por ejemplo, un par de cualquiera de las regiones variables de cadena liviana y pesada derivadas de 17552 expuestas anteriormente.

En consecuencia, en una forma de realización, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96; y

(b) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOS: 102 a 105.

Los apareamientos preferidos incluyen una región variable de cadena liviana 17552gL1 (SEQ ID No: 25) y una región variable de cadena pesada 17552gH1 (SEQ ID No: 29). Un par preferido adicional es 17552gL1 (SEQ ID No: 25) y 17552gH2 (SEQ ID No: 30). Otro par preferido es 17552gL1 (SEQ ID No: 25) y 17552gH3 (SEQ ID No: 31). Otro ejemplo de un par preferido es 17552gL1 (SEQ ID No: 25) y 17552gH4 (SEQ ID No: 32).

Otros apareamientos preferidos incluyen una región variable de cadena liviana 17552gL2 (SEQ ID No: 26) y una región variable de cadena pesada 17552gH1 (SEQ ID No: 29). Un par preferido adicional es 17552gL2 (SEQ ID No: 26) y 17552gH2 (SEQ ID No: 30). Otro par preferido es 17552gL2 (SEQ ID No: 26) y 17552gH3 (SEQ ID No: 31). Otro ejemplo de un par preferido es 17552gL2 (SEQ ID No: 26) y 17552gH4 (SEQ ID No: 32).

(d) Variantes y derivados

Además de las secuencias específicas derivadas de 17552 descritas en la presente, también se proporcionan variantes y derivados de las secuencias específicas descritas en otras partes del presente documento. Dicha variante retendrán la capacidad de unirse específicamente a CD45. Con preferencia, retendrá la capacidad de unirse específicamente tanto al CD45 humano como al CD45 del mono cynomolgus.

Formatos de anticuerpo ilustrativos

El término "anticuerpo" no se limita a un anticuerpo IgG convencional de cuatro cadenas con dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas. Incluye cualquier formato que tenga al menos un sitio de unión a antígeno formado por CDR y, en particular, por un conjunto de seis CDR. Los anticuerpos de la presente invención pueden ser un anticuerpo completo que tiene cadenas pesadas y ligeras de longitud completa o un fragmento del mismo. Cualquier referencia en la presente a un anticuerpo también abarca un fragmento de unión al antígeno del anticuerpo empleado, a menos que se indique lo contrario. Los ejemplos de tipos de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos incluyen, por ejemplo, un Fab, Fab modificado, Fab', Fab' modificado, F(ab')₂, Fv, anticuerpo de dominio único (por ejemplo, VH o VL o VHH), scFv, anticuerpo bi, tri o tetravalente, Bis-scFv, diacuerpo, triacuerpo, tetracuerpo o fragmentos de unión a epítomos de cualquiera de los anteriores (ver, por ejemplo, Holliger and Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair and Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). En una forma de realización, los anticuerpos de la presente invención no son anticuerpos de dominio único. Los métodos para crear y fabricar fragmentos de anticuerpos son bien conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Otros fragmentos de anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen los fragmentos Fab y Fab' descritos en las solicitudes internacionales de patente WO 2005/003169, WO 2005/003170 y WO 2005/003171. Los anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades, por ejemplo, pueden ser monoespecíficos o biespecíficos (ver, por ejemplo, WO 92/22853, WO 05/113605, WO 2009/040562 y WO 2010/035012). En una forma de realización

particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo monoespecífico para CD45. En otra forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es biparatópico para CD45. El término anticuerpo incluye anticuerpos monoespecíficos, biespecíficos y multiespecíficos. Así, por ejemplo, el término "anticuerpo" incluye específicamente formatos tales como Fab-X/Fab-Y, BYbe y TrYbe. El término "anticuerpo" también incluye fragmentos de anticuerpos, preferentemente los mencionados en la presente. En cualquier lugar de la presente en el que se haga referencia a un anticuerpo, se puede emplear también un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, a menos que el contexto específico indique lo contrario.

Los ejemplos de posibles formatos de anticuerpos son conocidos en la técnica, por ejemplo como se divulga en la revisión "The coming of Age of Engineered Multivalent Antibodies, Nunez-Prado et al Drug Discovery Today Vol 20 Number 5 Mar 2015, page 588-594, D. Holmes, Nature Rev Drug Disc Nov 2011:10; 798, Chan and Carter, Nature Reviews Immunology vol. 10, May 2010, 301, incorporados en la presente por referencia. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en cualquiera de los formatos establecidos a continuación. Se prefieren particularmente los anticuerpos basados en secuencias derivadas de los anticuerpos de conejo 17415 y 17552 descritos en la presente. Por lo tanto, para cualquiera de los formatos expuestos a continuación, en una forma de realización preferida, el anticuerpo comprenderá al menos un sitio de unión a antígeno que comprende regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de conejo 17415. En otra forma de realización preferida, para cualquiera de los formatos establecidos a continuación, el anticuerpo

comprenderá al menos un sitio de unión a antígeno que comprende regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de conejo 17552. En una forma de realización particularmente preferida, para aquellos formatos con al menos dos sitios de unión a antígeno, comprenderán al menos un sitio de unión a antígeno que comprende regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de conejo 17415 y al menos un sitio de unión a antígeno que comprende regiones variables de cadena liviana y pesada humanizadas derivados del anticuerpo 1552 de conejo.

Un formato de anticuerpo especialmente preferido es un anticuerpo de formato IgG.

Un "fragmento de unión", tal como se emplea en la presente, se refiere a un fragmento capaz de unirse a un péptido o antígeno diana con suficiente afinidad para caracterizar el fragmento como específico para el péptido o antígeno. El término "fragmento Fab", tal como se emplea en la presente, se refiere a un fragmento de anticuerpo que comprende un fragmento de cadena liviana que comprende un dominio V_L (variable liviano) y un dominio constante de una cadena liviana (C_L), y un dominio V_H (variable pesado) y un primer dominio constante (CH_1) de una cadena pesada. El término "Fv" se refiere a dos dominios variables, por ejemplo dominios variables cooperativos, tal como un par cognado o dominios variables madurados por afinidad, es decir, un par V_H y V_L . En una forma de realización, tales fragmentos se utilizan como una molécula de anticuerpo de la presente invención. Los dominios variables cooperativos, tal como se emplean en la presente, son dominios variables que se complementan entre sí y/o ambos contribuyen a la unión al antígeno para hacer que Fv (par V_H/V_L) sea específico para el antígeno en cuestión.

Un "sitio de unión a antígeno", tal como se emplea en la presente, se refiere a una región de unión, normalmente un polipéptido, capaz de unirse a un antígeno diana, por ejemplo con suficiente afinidad para caracterizar el sitio como específico para el antígeno. En una forma de realización, el sitio de unión contiene al menos un dominio variable o un derivado del mismo, por ejemplo un par de dominios variables o derivados del mismo, tal como un par cognado de dominios variables o un derivado del mismo. Típicamente, se trata de un par VH/VL. Las regiones variables (también denominadas en la presente dominios variables) comprenden generalmente 3 CDR y una estructura adecuada. En una forma de realización, un sitio de unión a antígeno comprende dos regiones variables, una región variable de cadena liviana y una región variable de cadena pesada, y juntos estos elementos contribuyen a la especificidad de la interacción de unión del anticuerpo o fragmento de unión a CD45 y, en particular, a la especificidad en términos de dónde se une CD45 al sitio de unión. En una forma de realización particularmente preferida, el par VH/VL está humanizado. Las seis CDR proporcionadas por un par de regiones variables de cadena liviana y pesada se pueden denominar como "conjunto de CDR".

Los residuos de los dominios variables de los anticuerpos se numeran convencionalmente según un sistema ideado por Kabat et al. Este sistema se expone en Kabat et al., 1987, en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, US Department of Health and Human Services, NIH, USA (en adelante "Kabat et al. (supra)"). Las designaciones de residuos de Kabat no siempre se corresponden directamente con la numeración lineal de los residuos de aminoácidos. La secuencia lineal real de aminoácidos puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que en la numeración estricta de Kabat correspondiente a un acortamiento de, o

inserción en, un componente estructural, ya sea región estructural o determinante de complementariedad (CDR), de la estructura de dominio variable básica. La numeración Kabat correcta de los residuos se puede determinar para un anticuerpo determinado mediante el alineamiento de los residuos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada Kabat "estándar". Las CDR del dominio variable de la cadena pesada se ubican en los residuos 31-35 (CDR-H1), 50-65 (CDR-H2) y 95-102 (CDR-H3) según el sistema de numeración de Kabat. Sin embargo, según Chothia (Chothia, C. and Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), el bucle equivalente a la CDR-H1 se extiende desde el residuo 26 hasta el 32. Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, la "CDR-H1" es la CDR-H1. Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, "CDR-H1", tal como se emplea en la presente, se refiere a los residuos 26 a 35, según una combinación del sistema de numeración de Kabat y la definición de bucle topológico de Chothia. Las CDR del dominio variable de la cadena liviana se ubican en los residuos 24-34 (CDR-L1), 50-56 (CDR-L2) y 89-97 (CDR-L3) según el sistema de numeración de Kabat.

En la presente solicitud, en la que se analiza la humanización, se utiliza la numeración lineal de aminoácidos, en lugar de la numeración de Kabat. Por lo tanto, la discusión de las posiciones de los aminoácidos en las variantes de injerto adopta la numeración lineal de aminoácidos.

Derivados, modificaciones y humanización

Además de los anticuerpos específicos en la presente descritos, se proporcionan variantes y derivados de los mismos. Tales variantes y derivados conservarán, como mínimo, la capacidad de unirse específicamente a CD45. En

una forma de realización preferida, conservarán sus funciones biológicas descritas en la presente, por ejemplo, la capacidad de destruir o reducir las células diana que expresan CD45. Cualquiera de los ensayos específicos y células diana empleados en la presente se puede utilizar, por ejemplo, para confirmar dicha actividad. En una forma de realización particularmente preferida, una variante o derivado conservará la capacidad de unirse específicamente tanto a CD45 humano como de mono cynomolgus. Se pueden utilizar ensayos tales como Biacore para confirmar dicha capacidad o ensayos basados en células. Una vez más, cualquiera de los métodos específicos utilizados en los Ejemplos de la presente solicitud se puede emplear para confirmar la capacidad de unirse específicamente a CD45 humano y de mono cynomolgus.

Una "variante" o "derivado", tal como se emplea en la presente, puede, por ejemplo, tener uno, dos, tres, cuatro o cinco o más cambios de secuencia de aminoácidos en comparación con una secuencia específica establecida en la presente. En una forma de realización, un parátipo o sitio de unión a antígeno puede comprender uno de los conjuntos de seis CDR específicas en la presente expuestas, aparte de un total de hasta siete cambios de secuencia de aminoácidos en las seis CDR en comparación con las secuencias específicas. En una forma de realización, hay hasta seis cambios de la secuencia de aminoácidos. En otra forma de realización, hay hasta cinco cambios de secuencia de aminoácidos. En otra forma de realización, hay hasta cuatro cambios de secuencia de aminoácidos. En una forma de realización preferida, hay hasta tres cambios de secuencia de aminoácidos. En una forma de realización preferida más, hay hasta dos cambios de secuencia de aminoácidos. En una forma de realización particularmente preferida, solo hay un cambio de secuencia de aminoácidos en comparación con las seis CDR específicas

establecidas. Cualquiera de estas variantes conservará la capacidad de unirse específicamente a CD45 humano. Con preferencia, la variante conservará la capacidad de unirse específicamente tanto al CD45 humano como de mono cynomolgus. En otra forma de realización, tales números de cambios de secuencia pueden estar en las regiones variables totales para los parátomos en comparación con los del anticuerpo específico establecido en la presente.

La modificación en las CDR puede incluir, por ejemplo, el reemplazo de una o más cisteínas por, por ejemplo, un residuo de serina. El Asn puede ser el sustrato para la desaminación y esta propensión se puede reducirse mediante el reemplazo del Asn y/o un aminoácido vecino con un aminoácido alternativo, tal como una sustitución conservadora. El aminoácido Asp en las CDR puede estar sujeto a isomerización. Esta última se puede minimizar mediante el reemplazo de Asp y/o un aminoácido vecino con un aminoácido alternativo, por ejemplo una sustitución conservadora. Las secuencias de aminoácidos se pueden utilizar para eliminar o reducir propiedades indeseables, pero se conservan los rasgos característicos. Los ejemplos de modificaciones son las destinadas a eliminar sitios de glicosilación, anclajes GPI o lisinas expuestas a solventes. Estas modificaciones se pueden lograr mediante el reemplazo de los residuos de aminoácidos pertinentes con una sustitución conservadora de aminoácidos.

Regiones constantes del anticuerpo y funciones de la región

Fc

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención no comprende un dominio Fc. En una forma de realización preferida alternativa, un anticuerpo de la presente invención comprende un dominio Fc alterado como

se describe a continuación en la presente. En una forma de realización preferida un anticuerpo de la presente invención comprende un dominio Fc, pero la secuencia del dominio Fc se ha alterado para eliminar una o más funciones efectoras Fc. En otra forma de realización, la región Fc de un anticuerpo de la presente invención ha sido modificada para optimizar una propiedad particular del anticuerpo, tal como cualquiera de las analizadas en la presente.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una región Fc "silenciada". Por ejemplo, en una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no muestra la función o funciones efectoras asociadas con una región Fc normal.

El dominio Fc empleado en la presente generalmente se refiere a $-(CH_2CH_3)_2$, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no comprende un fragmento $-CH_2CH_3$.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no comprende un dominio CH_2 .

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no comprende un dominio CH_3 .

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no se une a receptores de Fc.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no se une al complemento. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención no se une al primer factor del complemento, C1q o C1. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención no se une a esos factores porque, por ejemplo, carece de una región Fc. En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no se une a esos factores porque tiene una modificación en la región constante que impide su capacidad para hacerlo. En una forma de realización

alternativa, un anticuerpo de la invención no se une a FcγR, pero sí se une al complemento. Por ejemplo, en una forma de realización, un anticuerpo de la invención no se une a FcγR, pero se une a Clq y/o C1.

En una forma de realización, el anticuerpo de la presente invención no comprende una región Fc activa en el sentido de que el anticuerpo no desencadena la liberación de una o más citoquinas que una región Fc normal puede desencadenar. Por ejemplo, la región Fc de un anticuerpo de la invención puede no desencadenar la liberación de citoquinas cuando se une a un receptor Fc o puede no hacerlo significativamente.

En una forma de realización, los anticuerpos de la presente invención en general pueden comprender modificaciones que alteran la vida media sérica del anticuerpo. Por lo tanto, en otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención tiene modificaciones de la región Fc que alteran la vida media del anticuerpo. Tales modificaciones pueden estar presentes así como las que alteran las funciones Fc. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención tiene modificaciones que aumentan o disminuyen la vida media sérica del anticuerpo en comparación con un anticuerpo que carece de tales modificaciones. En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención comprende modificaciones que colectivamente silencian la región Fc y aumentan o disminuyen la vida media sérica del anticuerpo en comparación con un anticuerpo que carece de tales modificaciones.

Los dominios de la región constante de un anticuerpo de la presente invención, si están presentes, se pueden seleccionar teniendo en cuenta la función propuesta de la molécula de anticuerpo, y en particular las funciones efectoras que se puedan requerir. En una forma de realización preferida, un anticuerpo es uno que carece de Fc o carece de

una o más funciones efectoras de una región Fc y con preferencia de todas ellas. En otras formas de realización de la invención, las funciones efectoras de la región Fc del anticuerpo pueden estar todavía presentes. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención puede comprender una región constante humana, por ejemplo dominios constantes IgA, IgD, IgE, IgG o IgM. En particular, se pueden utilizar dominios de región constante IgG humanos, especialmente de los isotipos IgG1 e IgG3 cuando la molécula de anticuerpo se destina a usos terapéuticos en los que se requieren funciones efectoras del anticuerpo. Alternativamente, se pueden utilizar los isotipos IgG2 e IgG4 cuando la molécula de anticuerpo se destina a usos terapéuticos y no se requieran funciones efectoras de anticuerpos. Los isotipos IgG particularmente preferidos son IgG2 e IgG4. La región constante puede haberse modificado en una forma de realización preferida para que el anticuerpo no tenga funciones efectoras. Por lo tanto, se apreciará que también se pueden utilizar variantes de secuencia de estos dominios de región constante. Por ejemplo, se pueden usar moléculas de IgG4 en las que la serina en la posición 241 se ha cambiado a prolina como se describe en Angal et al., 1993, *Molecular Immunology*, 1993, 30:105-108. Por consiguiente, en la realización, en la que el anticuerpo es un anticuerpo IgG4, el anticuerpo puede incluir la mutación S241P. En otra forma de realización, un anticuerpo de la invención puede carecer de una región Fc.

Un anticuerpo de la invención puede tener, en una forma de realización, una región Fc silenciada. El término "silente", "silenciado", o "silenciamiento" como se usa en la presente se refiere a un anticuerpo que tiene una región Fc modificada descrita en la presente que ha disminuido la unión a un receptor Fc gamma (FcγR) en relación con la unión de un anticuerpo idéntico que comprende una región Fc no

modificada al FcγR (por ejemplo, una disminución de la unión a un FcγR de al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98%, al menos 99% o el 100% en relación con la unión del anticuerpo idéntico que comprende una región Fc no modificada al FcγR, medida mediante, por ejemplo, BLI). En algunas formas de realización, el anticuerpo con Fc silenciado no tiene unión detectable a un FcγR. La unión de un anticuerpo que tiene una región Fc modificada a un FcγR se puede determinar usando una variedad de técnicas conocidas en la materia, por ejemplo, pero no limitadas a, métodos de equilibrio (por ejemplo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. *Analytical Biochemistry*, Vol. 373:52-60, 2008; o radioinmunoensayo (RIA)), o mediante un ensayo de resonancia de plasmón superficial u otro mecanismo de ensayo basado en la cinética (por ejemplo, análisis BIACORE™ o análisis Octet™ (forteBIO)), y otros métodos tales como ensayos de unión indirecta, ensayos de unión competitiva, transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), electroforesis en gel y cromatografía (por ejemplo, filtración en gel). En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede haber sido modificado para reducir o eliminar la unión al FcγR, pero aún permitir la activación del complemento. En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede tener una región Fc modificada de manera que no active la liberación de citoquinas, pero aún sea capaz de activar el complemento.

En una forma de realización, la cadena pesada del anticuerpo comprende un dominio CH₁ y la cadena liviana del anticuerpo comprende un dominio CL, sea kappa o lambda. En una forma de realización, la cadena pesada del anticuerpo comprende un dominio CH₁, un dominio CH₂ y un dominio CH₃ y

la cadena liviana del anticuerpo comprende un dominio CL, kappa o lambda. Se prefieren las cadenas livianas kappa.

Los cuatro isotipos de IgG humana se unen a los receptores Fcγ activadores (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIa), al receptor inhibidor FcγRIIb y al primer componente del complemento (C1q) con diferentes afinidades, lo que produce funciones efectoras muy diferentes (Bruhns P. et al., 2009. Specificity and affinity of human FcγRs and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood*. 113(16):3716-25), ver también Jeffrey B. Stavenhagen, et al. *Cancer Research* 2007 Sep 15; 67(18):8882-90. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención no se une a receptores Fc. En otra forma de realización de la presente invención, el anticuerpo se une a uno o más tipos de receptores Fc.

La unión de la IgG a los FcγR o C1q depende de residuos situados en la región bisagra y en el dominio CH₂. Dos regiones del dominio CH₂ son críticas para la unión a FcγRs y C1q, y tienen secuencias únicas en IgG2 e IgG4. Se ha demostrado que las sustituciones en la IgG1 humana de residuos de IgG2 en las posiciones 233-236 y de residuos de IgG4 en las posiciones 327, 330 y 331 reducen en gran medida la ADCC y CDC (Armour KL. et al., 1999. Recombinant human IgG molecules lacking Fc gamma receptor I binding and monocyte triggering activities. *Eur J Immunol*. 29(8):2613-24 y Shields RL. et al., 2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R. *J Biol Chem*. 276(9):6591-604). Además, Idusogie et al. demostraron que la sustitución de alanina en diferentes posiciones, incluida K322, reducía significativamente la activación del complemento (Idusogie EE. et al., 2000. Mapping of the C1q binding site on rituxan, a chimeric antibody with a human

IgG1 Fc. J Immunol. 164(8):4178-84). Del mismo modo, se demostró que las mutaciones en el dominio CH₂ de la IgG2A murina reducen la unión a FcγRI, y C1q (Steurer W. et al., 1995. *Ex vivo* coating of islet cell allografts with murine CTLA4/Fc promotes graft tolerance. J Immunol. 155(3):1165-74).

En una forma de realización, la región Fc empleada está mutada, en particular una mutación descrita en la presente. En una forma de realización, la mutación es para eliminar la unión y/o la función efectora. En una forma de realización preferida, el anticuerpo de la invención ha sido mutado para que no se una a receptores Fc. En otra forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención no comprende una región Fc y por ese motivo no muestra actividad efectora Fc. En una forma de realización, la mutación Fc se selecciona del grupo que comprende una mutación para eliminar o mejorar la unión de la región Fc a un receptor Fc, una mutación para aumentar o eliminar una función efectora, una mutación para aumentar o disminuir la vida media del anticuerpo y una combinación de las mismas. En una forma de realización preferida, la modificación elimina o reduce la unión a receptores Fc. En otra forma de realización preferida, la modificación elimina o reduce una función efectora Fc. En otra forma de realización preferida, la modificación aumenta o reduce la vida media sérica. En otra forma de realización preferida, la región constante del anticuerpo comprende una modificación o modificaciones que reducen o eliminan la unión a receptores Fc, y la función efectora Fc, así como aumentan o reducen la vida media sérica. En una forma de realización, cuando se hace referencia al impacto de una modificación, se puede demostrar por comparación con el anticuerpo equivalente pero carente de la modificación.

En otra forma de realización de la presente invención, un anticuerpo puede tener modificaciones de la cadena pesada que modifican la capacidad de unirse a la Proteína A y, en particular, para eliminar la unión a la Proteína A. Como se analiza en la presente, tal enfoque se puede utilizar preferentemente para facilitar la purificación de anticuerpos biespecíficos. Sin embargo, en otras formas de realización, cualquier anticuerpo de la invención se puede modificar, si tiene una región Fc, para alterar la unión a la Proteína A. Por ejemplo, ambas cadenas pesadas pueden incluir una región Fc. Por ejemplo, ambas cadenas pesadas pueden incluir la modificación. Alternativamente, ambas cadenas pesadas pueden carecer de la modificación. Sin embargo, en una forma de realización preferida, una tiene la modificación y la otra no.

Algunos anticuerpos que se unen selectivamente al FcRn a pH 6.0. pero no a pH 7,4, presentan una vida media superior en diversos modelos animales. Varias mutaciones ubicadas en la interfaz entre los dominios CH₂ y CH₃, tal como T250Q/M428L (Hinton PR. et al., 2004. Engineered human IgG antibodies with longer serum half-lives in primates. J Biol Chem. 279(8):6213-6), M252Y/S254T/T256E + H433K/N434F (Vaccaro C. et al., 2005. Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate in vivo antibody levels. Nat Biotechnol. 23(10):1283-8) y M428L/N434S (Zalevsky et al., 2010, Enhanced antibody half-life improves in vivo activity. Nature Biotech 28:157-159), han demostrado aumentar la afinidad de unión al FcRn y la vida media de la IgG1 in vivo. Por lo tanto, puede haber modificaciones en M252/S254/T256 + H44/N434 que alteren la vida media sérica y, en particular, puede estar presente M252Y/S254T/T256E + H433K/N434F. Sin embargo, no siempre existe una relación directa entre el aumento de la unión al FcRn y el aumento de la vida media (Datta-Mannan A. et al., 2007. Humanized IgG1 Variants

with Differential Binding Properties to the Neonatal Fc Receptor: Relationship to Pharmacokinetics in Mice and Primates. Drug Metab. Dispos. 35: 86 - 94). En una forma de realización, se desea aumentar la vida media. En otra forma de realización, se puede desear disminuir realmente la vida media sérica del anticuerpo, por lo que puede haber modificaciones que disminuyan la vida media sérica.

La subclase IgG4 muestra una unión reducida al receptor Fc (FcγRIIIa). Los anticuerpos de otras subclases de IgG muestran generalmente una unión fuerte. La unión reducida al receptor en estos otros subtipos de IgG se puede afectar mediante la alteración, por ejemplo, el reemplazo de uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que comprende Pro238, Aps265, Asp270, Asn270 (pérdida de carbohidrato Fc), Pro329, Leu234, Leu235, Gly236, Gly237, Ile253, Ser254, Lys288, Thr307, Gln311, Asn434 e His435. En una forma de realización, una molécula de acuerdo con la presente invención tiene un Fc de subclase IgG, por ejemplo IgG1, IgG2 o IgG3 en el que el Fc está mutado en una, dos o todas las posiciones siguientes S228, L234 y/o D265. En una forma de realización, las mutaciones en la región Fc se seleccionan independientemente de S228P, L234A, L235A, L235A, L235E y combinaciones de las mismas.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede comprender modificaciones que influyen en si un anticuerpo provoca la liberación de citoquinas. En particular, se ha demostrado que las modificaciones L234F y K274Q reducen la capacidad del anticuerpo para provocar la liberación de citoquinas. Por lo tanto, en una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede comprender modificaciones en L234 y/o K274 que alteran la liberación de citoquinas y, en particular, las modificaciones L234F y K274Q. Además, el residuo L234 puede tener un impacto en la activación

plaquetaria y dicho residuo se puede modificar adicional o alternativamente. En una forma de realización de la invención, por ejemplo, se puede introducir una modificación L234 que altere la unión plaquetaria y, en particular, una modificación L234F. También se ha demostrado que P331 desempeña un papel en la unión de Clq, por lo que en una forma de realización P331 puede no modificarse para mantener la activación del complemento. En otra, se puede modificar para reducir o eliminar la activación del complemento; por ejemplo, las cadenas pesadas pueden comprender una modificación P331S. En otra forma de realización, está presente una modificación P329 que reduce o elimina la unión al complemento, en particular una modificación P329A. En otra forma de realización, el anticuerpo puede comprender una o más de las modificaciones en las posiciones P329, P331, K332 y/o D265. En una forma de realización preferida, un anticuerpo puede comprender modificaciones en P329A, P331S, K332A y D265A para influir en la unión al complemento y, en particular, para reducir la unión a Clq.

Se puede desear reducir o aumentar la función efectora de una región Fc. En una forma de realización preferida, se desea disminuir dichas funciones efectoras. En otra, se desea optimizarla. Con los anticuerpos dirigidos a moléculas de la superficie celular, especialmente las de las células inmunitarias, normalmente se requiere anular las funciones efectoras. En otros casos, en particular cuando el objetivo es reducir las células, puede ser deseable que las funciones efectoras Fc se hayan eliminado o reducido al nivel más bajo posible. Por ejemplo, en una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es capaz de inducir la muerte celular en células diana que expresan CD45, pero no muestra funciones efectoras Fc. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención carece de una región Fc activa.

Por ejemplo, el anticuerpo puede no tener físicamente una región Fc o el anticuerpo puede comprender modificaciones que vuelvan inactiva la región Fc. Esto último se puede denominar, por ejemplo, silenciamiento de Fc. En una forma de realización, el silenciamiento Fc puede significar que un anticuerpo de la invención es menos capaz, o no provoca, la liberación de una o más citoquinas que un anticuerpo con una región Fc no modificada normalmente puede provocar. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención es capaz de estimular la muerte celular pero no muestra funciones de Fc. Otros ejemplos de funciones Fc incluyen la estimulación de la desgranulación de mastocitos y, de nuevo, esa función puede estar reducida o ausente en un anticuerpo de la invención. El grado de reducción de la función Fc puede ser, por ejemplo, de al menos el 65% y, por ejemplo, de al menos 75%. En una forma de realización, la reducción es de al menos 80%. En otra forma de realización, la reducción es de al menos 90%. La reducción puede ser, por ejemplo, de al menos 95%. En una forma de realización preferida, la reducción es de al menos 99%. En otra forma de realización, la reducción puede ser de 100%, lo que significa que la función Fc se elimina completamente en tales casos.

Se han realizado numerosas mutaciones en el dominio CH₂ de la IgG1 humana y se ha comprobado in vitro su efecto sobre la ADCC y la CDC (Idusogie EE. et al., 2001. Engineered antibodies with increased activity to recruit complement. J Immunol. 166(4):2571-5). En particular, se informó que la sustitución de alanina en la posición 333 aumenta tanto ADCC como CDC. Por lo tanto, en una forma de realización puede estar presente una modificación en la posición 333, y en particular una que altere la capacidad de reclutar complemento. Lazar et al. describieron un mutante triple (S239D/I332E/A330L) con una mayor afinidad por FcγRIIIa y una menor afinidad por FcγRIIb, lo que produce una ADCC

mejorada (Lazar GA. et al., 2006). Por lo tanto, puede haber modificaciones en S239/I332/A330, en particular las que alteran la afinidad por los receptores Fc y, en particular, S239D/I332E/A330L. Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function. PNAS 103(11): 4005-4010). Las mismas mutaciones se utilizaron para generar un anticuerpo con mayor ADCC (Ryan MC. et al., 2007. Antibody targeting of B-cell maturation antigen on malignant plasma cells. Mol. Cancer Ther., 6: 3009 - 3018). Richards et al. estudiaron un mutante triple ligeramente diferente (S239D/I332E/G236A) con afinidad FcγRIIIa y relación FcγRIIIa/FcγRIIb mejoradas que median en la fagocitosis mejorada de células diana por macrófagos (Richards JO et al (2008) Optimization of antibody binding to FcγRIIIa enhances macrophage phagocytosis of tumor cells. Mol Cancer Ther. 7(8):2517-27). En una forma de realización, las modificaciones de S239D/I332E/G236A en consecuencia pueden estar presentes.

Debido a su falta de funciones efectoras, los anticuerpos IgG4 representan una subclase IgG adecuada para el bloqueo de receptores. Las moléculas IgG4 pueden intercambiar semimoléculas en un proceso dinámico denominado intercambio Fab-brazo. Este fenómeno se puede producir entre anticuerpos terapéuticos e IgG4 endógena. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención tiene una modificación en S228 y en particular S228P. Se ha demostrado que la mutación S228P impide este proceso de recombinación, lo que permite el diseño de anticuerpos IgG4 terapéuticos menos impredecibles (Labrijn AF. et al., 2009. Therapeutic IgG4 antibodies engage in Fab-arm exchange with endogenous human IgG4 in vivo. Nat Biotechnol. 27(8):767-71). Esta tecnología se puede emplear para crear moléculas de anticuerpos biespecíficos. Las modificaciones expuestas en la presente, en una forma de

realización preferida, se pueden emplear en el contexto de IgG4.

El documento WO 2008/145142 divulga ejemplos de modificaciones y, en particular, modificaciones para anticuerpos de isotipo IgG4 que se pueden emplear en la presente invención. En una forma de realización, las cadenas pesadas de un anticuerpo de la presente invención pueden comprender una región constante IgG4 humana que tiene una sustitución del residuo Arg en la posición 409, el residuo Phe en la posición 405 y/o el residuo Lys en la posición 370. Por ejemplo, en una forma de realización preferida, las cadenas pesadas del anticuerpo comprenden una modificación en la posición 409 y, en particular, una seleccionada de la introducción de un residuo Lys, Ala, Thr, Met o Leu en dicha posición. En una forma de realización, la modificación consiste en la introducción de un residuo de Lys, Thr, Met o Leu en la posición 409. En otra forma de realización, la modificación puede consistir en la introducción de un residuo de Lys, Met o Leu en la posición 409. En una forma de realización, el anticuerpo no comprende un Cys-Pro-Pro-Cys en la región bisagra. En una forma de realización, el anticuerpo muestra una capacidad reducida para inducir el intercambio del brazo Fab in vivo. En una forma de realización, la región bisagra del anticuerpo comprende una secuencia CXPC o CPXC donde X es cualquier aminoácido excepto prolina. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención puede emplear la capacidad de una clase particular de anticuerpo, isotipo de anticuerpo o alotipo de anticuerpo para mostrar una propiedad particular. Dicha diversidad natural se puede utilizar para conferir una propiedad particular. Por ejemplo, la IgG1 tiene R409 mientras que la IgG4 tiene K409 en la posición 409 de la cadena pesada, lo que puede influir de forma natural en la capacidad del anticuerpo. En Jefferis *et al* (2009) *mAbs*, 1(4): 332-338 se

ofrece una revisión de diversas variaciones de secuencia que se producen de forma natural, que se incorpora por referencia en su totalidad, en particular en relación con las variaciones de secuencia allí analizadas.

Los expertos en la materia entenderán también que los anticuerpos pueden experimentar diversas modificaciones postraduccionales. El tipo y alcance de estas modificaciones depende a menudo de la línea celular huésped utilizada para expresar el anticuerpo, así como de las condiciones de cultivo. Dichas modificaciones pueden incluir variaciones en la glicosilación, oxidación de metionina, formación de dicetopiperazina, isomerización de aspartato y desamidación de asparagina. Una modificación frecuente es la pérdida de un residuo básico carboxi-terminal (tal como lisina o arginina) debido a la acción de las carboxipeptidasas (como se describe en Harris, RJ. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995). En consecuencia, la lisina C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo puede estar ausente.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede ser una IgG aglicosilada, por ejemplo para producir una función Fc reducida y en particular un fenotipo casi Fc-nulo. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención tiene una modificación en N297 y en particular N297A. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención tiene modificaciones en F243 y/o F244, en particular las que significan que el anticuerpo es una IgG aglicosilada. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede comprender las modificaciones de cadena pesada F243A y/o F244A. En otra forma de realización, uno o más de F241, F243, V262 y V264 se pueden modificar y particularmente a aminoácidos que influyen en la glicosilación. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede tener modificaciones en F241A, F243A, V262E y V264E. Tales

modificaciones se analizan en Yu et al (2013) 135(26): 9723-9732, que se incorpora por referencia en su totalidad, particularmente en relación con las modificaciones allí analizadas. Estas modificaciones permiten modular, por ejemplo, la unión al receptor Fc. Puede estar presente una modificación que influya en la glicosilación del anticuerpo. Además, un anticuerpo de la invención se puede producir en un tipo de célula que influya en la glicosilación como un enfoque adicional para la manipulación genética de azúcares. En una forma de realización, la fucosilación, sialilación, galactosilación y/o manosilación de un anticuerpo de la presente invención se puede alterar mediante modificaciones de la secuencia y/o a través del tipo de célula utilizada para producir el anticuerpo.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención tiene modificaciones en la posición 297 y/o 299. Por ejemplo, en una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una modificación en N297A en sus cadenas pesadas, con preferencia N297Q o mutación de Ser o Thr en 299 en otros residuos. En una forma de realización, tiene estas dos modificaciones.

Un ejemplo de modificaciones de región constante particularmente preferidas son las modificaciones Leu234Ala y Leu235Ala (de acuerdo con la numeración UE) también conocidas como la modificación LALA. En particular, se prefiere un formato de anticuerpo IgG1 con una modificación LALA. En otra forma de realización preferida, el anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo IgG4 con una modificación FALA.

En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede tener una región bisagra y/o región CH1 modificada. Alternativamente, el isotipo empleado se puede elegir por tener una región bisagra particular. Como se describe en White et al (2015) Cancer Cell 27(1): 138-

148), las regiones CH1 IgG2 y bisagra confieren propiedades particulares, en particular en relación con los puentes disulfuro entre las cadenas pesada y liviana. El uso de modificaciones para favorecer la flexibilidad en la región bisagra o la flexibilidad reducida también se puede emplear, por ejemplo, en un anticuerpo de la presente invención. Los enfoques para alterar la flexibilidad de la región bisagra se divulgan en Liu et al (2019) Nature Communications 10: 4206. White et al (2015) y Liu et al (2019) se incorporan por referencia en su totalidad, en particular en relación con las modificaciones analizadas. En una forma de realización, una cadena pesada de un anticuerpo de la presente invención tiene un IgG2 CH1 y/o región bisagra y en otra forma de realización ambas cadenas pesadas lo tienen. En una forma de realización, el anticuerpo empleado es un anticuerpo IgG1. En una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo empleado puede ser un anticuerpo IgG2 o IgG4 con una modificación de bisagra o CH1, en particular uno con una región de bisagra modificada, por ejemplo uno diseñado para alterar la formación de enlace disulfuro. En otra forma de realización, se emplea un anticuerpo de isotipo IgG2 o IgG4, ya que las regiones bisagra de esos isotipos muestran menos flexibilidad que un anticuerpo de isotipo IgG3. En una forma de realización, se emplea un anticuerpo de isotipo IgG4 en una forma que puede provocar la reticulación de CD32.

En otra forma de realización, el anticuerpo muestra la mejor capacidad estérica para provocar la reticulación de moléculas CD45.

Se proporcionan ejemplos de secuencias de región constante de cadena pesada particularmente preferidas que comprenden la modificación LALA como SEQ ID NOs: SEQ ID NOs: 144, 146, y 148.

La región constante de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 148 tiene la llamada modificación "botón", T336W. La región constante de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 146 tiene la llamada modificación "ojal", T366S, L366S y Y407. Las modificaciones "botón en ojales" promueven la formación de heterodímeros y, por tanto, la formación de anticuerpos biparatópicos frente a anticuerpos monoespecíficos. Como tal, en una forma de realización particularmente preferida, tales regiones constantes de cadena pesada se emplean para anticuerpos biparatópicos de la invención.

Un ejemplo de una secuencia de región constante de cadena liviana particularmente preferida que comprende se proporciona respectivamente como SEQ ID NOs: 145.

En una forma de realización particularmente preferida, las regiones constantes de cadena pesada y cadena liviana en un anticuerpo monoespecífico de la invención son las de SEQ ID NO: 144 y 145. En una forma de realización, dichas regiones constantes se utilizan junto con las regiones variables VR17415gL15gH6.

En otra forma de realización particularmente preferida, las regiones constantes de la cadena pesada y cadena liviana en un anticuerpo biparatópico de la invención son las de las SEQ ID NO: 146 y 148 para las cadenas pesadas y la SEQ ID NO: 145 para la cadena liviana. En una forma de realización, las regiones constantes usadas para la porción VR17552gL1gH4 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 148 y 145. En una forma de realización, las regiones constantes usadas para la porción VR17552gL1gH4 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 146 y 145.

En una forma de realización las regiones constantes usadas para la porción VR17415gL15gH6 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 148 y 145. En una forma de realización las regiones constantes usadas para la

porción VR17415gL15gH6 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 146 y 145.

En una forma de realización las regiones constantes usadas para la porción VR17552gL1gH4 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 148 y 145 y las regiones constantes usadas para la porción VR17415gL15gH6 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 148 y 145. En una forma de realización las regiones constantes usadas para la porción VR17552gL1gH4 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 146 y 145 y las regiones constantes usadas para la porción VR17415gL15gH6 de un anticuerpo biparatópico son las de las SEQ ID NOs: 146 y 145.

Anticuerpos biespecíficos y biparatópicos

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención es biespecífico. En una forma de realización preferida, es un anticuerpo biparatópico para CD45, es decir, tiene dos especificidades para CD45. Se dispone de una variedad de formatos de anticuerpos biespecíficos para favorecer la formación, o purificación, de anticuerpos biespecíficos respecto de anticuerpos monoespecíficos cuando las diferentes cadenas pesadas y ligeras para las especificidades se expresan juntas, y se pueden emplear en la presente invención. .

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención puede tener modificaciones que favorezcan la formación de un anticuerpo de la invención sobre especies no deseadas. Tales modificaciones son particularmente preferidas cuando un anticuerpo de la invención comprende al menos dos sitios de unión a antígeno diferentes que reconocen epítomos diferentes. En particular, tales modificaciones son particularmente preferidas para anticuerpos biespecíficos y

biparatópicos. Por ejemplo, en una forma de realización la producción de un anticuerpo de la invención puede implicar dos sitios de unión a antígeno diferentes, en particular dos parátomos diferentes, que están en cadenas polipeptídicas diferentes y asociadas. Por lo tanto, puede ser deseable formar heterodímeros que incluyan ambas especificidades con preferencia a homodímeros que solo incluyan una de las dos. Un ejemplo de un enfoque que favorece la formación de heterodímeros es el empleo de modificaciones de la cadena pesada que favorecen la asociación de dos cadenas pesadas diferentes, en lugar de dos cadenas pesadas iguales. En una forma de realización, uno (o al menos uno) de los compañeros de unión es incapaz de formar un homodímero, por ejemplo, se muta una secuencia de aminoácidos del compañero de unión para eliminar o minimizar la formación de homodímeros. Ejemplos de este tipo de modificaciones incluyen los denominadas "botones en ojales". Las posibles modificaciones "botones en ojales" se exponen, por ejemplo, en Merchant *et al* (1998) *Nature Biotechnology* 16(7): 677-681 y Carter *et al* (2001) *J Immunol Methods*, 248(1-2): 7-15, que se incorporan por referencia, en particular en relación con las modificaciones de botones en ojales que allí se analizan. Las modificaciones de carga se pueden emplear alternativa o adicionalmente para favorecer la formación de heterodímeros en lugar de homodímeros; por ejemplo, dichas modificaciones pueden estar presentes en las cadenas pesadas. En otra forma de realización, las modificaciones de carga se utilizan para provocar el apareamiento de una cadena liviana particular con una cadena pesada particular.

En una forma de realización, estos enfoques para favorecer la formación de heterodímeros se utilizan en combinación con un enfoque de cadena liviana común. En otra forma de realización, en lugar de favorecer la formación de heterodímeros respecto de homodímeros, puede haber

modificaciones que permitan separar más fácilmente los heterodímeros de los homodímeros, por ejemplo mediante cromatografía. De nuevo, dicho enfoque puede ser, en algunas formas de realización, empleado con un enfoque de cadena liviana común. En otra forma de realización, las porciones del anticuerpo que llevan un parátipo particular contra CD45 solo son capaces de asociarse con aquellas porciones del anticuerpo que comprenden el parátipo diferente del anticuerpo.

Incapaz de formar homodímeros, tal como se emplea en la presente, se refiere a una propensión baja o nula a formar homodímeros. Baja como se emplea en la presente se refiere a 20%, 10%, 5% o menos, tal como 4, 3, 2, 1, 0,5% o menos agregado.

También se pueden emplear modificaciones de la cadena pesada para que una cadena pesada tenga una afinidad diferente por un agente de unión en comparación con la otra. Por ejemplo, las dos cadenas pesadas diferentes pueden tener diferente afinidad por la Proteína A. En una forma de realización, una cadena pesada tiene una modificación que elimina la unión a la Proteína A o es de un isotipo que no se une a la Proteína A, mientras que la otra cadena pesada sigue uniéndose a la Proteína A. Aunque este enfoque no altera la proporción de heterodímero formado, permite la purificación del anticuerpo heterodimérico a partir de cualquiera de los anticuerpos homodiméricos sobre la base de afinidad por la Proteína A. Un anticuerpo de la presente invención puede tener modificaciones en las posiciones 95 y 96 de una de las cadenas pesadas que influyen en la unión a Proteína A. Los ejemplos de tales modificaciones que se pueden emplear incluyen el empleo de una modificación H95R para una cadena pesada o las modificaciones H95R e Y96F ambas en el sistema de numeración de exones IMGT. Dichas modificaciones son la modificación H435R y la modificación

H435R e Y436F en el sistema de numeración EU. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención también puede tener modificaciones en D16, L18, N44, K52, V57 y V82. En una forma de realización, tales modificaciones están presentes en la cadena pesada así como una o más de las modificaciones D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I en el sistema de numeración IMGT. En una forma de realización, tales modificaciones se emplean cuando la IgG es IgG1, IgG2 o IgG4. En una forma de realización particularmente preferida, se emplean para una de las dos cadenas pesadas cuando ambas cadenas pesadas son el isotipo IgG4. El enfoque de tales modificaciones para influir en la unión a la proteína A se describe, por ejemplo, en el documento US 2010/0331527 A1, que se incorpora por referencia en su totalidad y, en particular, en relación con las modificaciones que divulga que se relacionan con la unión a la proteína A.

En otra forma de realización, el isotipo de las cadenas pesadas empleadas se puede elegir en función de su capacidad para unirse a la proteína A. Por ejemplo, en los seres humanos, las IgG1, IgG2 e IgG4 en su forma salvaje se unen a la proteína A, mientras que la IgG3 humana salvaje no lo hace. En una forma de realización particularmente preferida, ambas cadenas pesadas son IgG4, pero una tiene modificaciones para reducir o eliminar la unión a la Proteína A. Esto significa que la forma heterodimérica del anticuerpo podrá separarse más fácilmente de las formas homodiméricas no deseadas sobre la base de la afinidad por la proteína A.

En una forma de realización, las modificaciones para promover la formación del heterodímero se pueden combinar con las que permiten la purificación del heterodímero. En una forma de realización, las modificaciones pueden estar en las posiciones F405 y K409. Por ejemplo, un ejemplo de un par de modificaciones que se pueden introducir en las dos

cadena pesada para favorecer la formación del heterodímero son F405L y K409R. Dichas modificaciones se pueden emplear solas o en combinación con modificaciones de la cadena pesada que permitan la purificación preferencial del heterodímero. En una forma de realización, una cadena pesada tiene modificaciones en las posiciones 405, 409, 435 y 436 y la otra cadena pesada en la posición 409. En una forma de realización, una cadena pesada tiene la modificación F405L y la otra tiene las modificaciones K409R, H435R e Y436F. En otra forma de realización, una cadena pesada tiene la modificación F405L, H435R e Y436F y la otra cadena pesada tiene la modificación K409R. Los ejemplos de tales enfoques se describen en Steinhardt et al (2020) *Pharmaceutics*, 12, 3, que se incorpora por referencia en su totalidad, en particular en relación con los formatos de anticuerpos biespecíficos y las modificaciones de cadena pesada descritas. En otra forma de realización, se pueden emplear enfoques relacionados con la cadena liviana y, en particular, además de los enfoques para la cadena pesada descritos anteriormente. En una forma de realización, se aplica el enfoque Roche Cross-Mab. En otra forma de realización, se puede emplear una cadena liviana común de modo que se emplee la misma cadena liviana para ambas especificidades. En Spiess et al (2015) *Molecular Immunology* 67: 95-106 se examinan diversos formatos de anticuerpos biespecíficos que se pueden emplear en la presente invención.

En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo biparatópico de la presente invención es un anticuerpo de formato IgG. En una forma de realización preferida, es un anticuerpo IgG1 o IgG4. En una forma de realización particularmente preferida, es un anticuerpo de formato IgG1 cuya región constante comprende modificaciones LALA. En una forma de realización particularmente preferida,

es un anticuerpo de formato IgG4 cuya región constante comprende modificaciones FALA.

Anticuerpos biparatópicos derivados de 17415 x 17552

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención es biparatópico para CD45. En una forma de realización, el anticuerpo también puede comprender al menos una especificidad para una molécula distinta de CD45, que es adicional a las dos especificidades para CD45. Por ejemplo, el anticuerpo puede comprender una especificidad adicional que sea específica para una proteína sanguínea o una proteína de superficie específica celular. Una especificidad particularmente preferida es una contra la albúmina sérica. En una forma de realización alternativa, un anticuerpo de la presente invención es biparatópico para CD45 y no comprende ninguna especificidad adicional.

En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es biparatópico para CD45 ya que comprende una especificidad derivada 17415 para CD45 y también comprende una especificidad derivada 17552 para CD45. Se puede dar el caso de que la especificidad derivada 17552 se pueda considerar como la especificidad "auxiliar" y la especificidad derivada 17415 se pueda considerar como la especificidad "destructiva".

Se puede emplearse cualquier apareamiento de variantes de injerto derivadas de 17415 y 17552. Por ejemplo, se puede emplear cualquier par de las Figuras 2 a 4. En una forma de realización, la especificidad 17415 es de la Tabla 1 y la especificidad 17552 es de la Tabla 2. Las combinaciones particularmente preferidas son las utilizadas en los Ejemplos y Figuras de la presente solicitud.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En otra forma

de realización, un biparatópico preferido es un17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En otra forma de realización, un biparatópico preferido es un 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En otra forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico. En una forma de realización, un biparatópico preferido es un17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico. En una forma de realización, el biparatópico comprende las CDR de estas combinaciones. En otra forma de realización comprenderá las regiones variables enteras de cadena liviana y pesada de estas combinaciones.

En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo biparatópico de la presente invención es un anticuerpo de formato IgG. En una forma de realización preferida, es un anticuerpo IgG1 o IgG4. En una forma de realización particularmente preferida, es un anticuerpo de formato IgG1 cuya región constante comprende modificaciones LALA. En una forma de realización particularmente preferida, es un anticuerpo de formato IgG4 cuya región constante comprende modificaciones FALA. Por lo tanto, estos formatos se pueden utilizar para cualquiera de los anticuerpos derivados 17415 y 17552 expuestos en la presente que comprenden regiones variables humanizadas y, en particular, cualquiera de las combinaciones de regiones variables de cadena liviana y pesada expuestas anteriormente.

Los SEQ ID Nos para las secuencias de región variable de cadena liviana y pesada para los anticuerpos biparatópicos anteriores se pueden hallar con referencia a las Tablas 1 y 2 y, en particular, con referencia a las SEQ ID NO de las variantes de injerto como se establece en dichas Tablas. También se prefieren los anticuerpos biparatópicos que comprenden los conjuntos de CDR o apareamientos de regiones variables de los anticuerpos biparatópicos específicos descritos en los Ejemplos de la presente solicitud.

Los anticuerpos biparatópicos particularmente preferidos de la invención son aquellos con los conjuntos de CDR de los anticuerpos biparatópicos mostrados en la Figura 17. Otros anticuerpos biparatópicos particularmente

preferidos de la invención son aquellos con las regiones variables de cadena liviana y pesada de los anticuerpos biparatópicos mostrados en la Figura 17.

En una forma de realización particularmente preferida, en la que se proporciona una especificidad derivada de VR1745, se proporciona el anticuerpo IgG1 LALA VR17415gL15gH6, cuya secuencia para las cadenas liviana y pesada se muestra en la Figura 31. Por lo tanto, en una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo comprenderá la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 140 y la secuencia de cadena liviana de SEQ ID NO: 141. En una forma de realización, en la que el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 LALA VR17415gL15gH6 monoespecífico que comprende dos de dichas cadenas pesadas y dos de dichas cadenas ligeras. En una forma de realización, en la que el anticuerpo es biparatópico, una especificidad del anticuerpo comprenderá un par de cadenas pesadas y ligeras de SEQ ID NOS: 140 y 141. También se proporcionan variantes como se analiza en la presente de dicho anticuerpo específico.

En una forma de realización particularmente preferida, cuando se emplea una especificidad derivada de VR17552, se emplea el anticuerpo IgG1 LALA VR17552gL1gH4. Por lo tanto, en una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo comprenderá la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 142 y la secuencia de cadena liviana de SEQ ID NO: 143. En una forma de realización, cuando el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 LALA VR17552gL1gH4 monoespecífico, el anticuerpo comprenderá dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. En una forma de realización, donde el anticuerpo es biparatópico, una especificidad del anticuerpo comprenderá un par de cadenas pesadas y ligeras de SEQ ID NOS: 142 y 143. También se proporcionan variantes como se analiza en la presente de tal anticuerpo biparatópico específico.

En una forma de realización particularmente preferida, se proporciona un anticuerpo biparatópico con las secuencias de cadena liviana y pesada dadas en la Figura 32, de modo que VR17415gL15gH6 se proporciona respectivamente mediante las secuencias de cadena pesada y liviana de los SEQ ID NOs: 147 y 141, mientras que la especificidad VR17552gL1gH4 se proporciona respectivamente mediante las secuencias de cadena pesada y liviana de los SEQ ID Nos: 142 y 143. También se proporcionan variantes de dicho anticuerpo biparatópico específico, tal como se analiza en la presente.

Generación y pruebas del anticuerpo

En la presente sección se describen diversos métodos que se pueden emplear para generar variantes. En el caso de un anticuerpo que es biparatópico para CD45, aunque se prefiere un anticuerpo biparatópico que comprende tanto una especificidad CD45 derivada de 17415 como una especificidad CD45 derivada de 17552, los métodos descritos actualmente también se pueden usar para identificar otras especificidades CD45 para aparearse con una especificidad derivada de 17415 o una especificidad derivada de 17552.

En una forma de realización, los anticuerpos de la presente invención o componentes de anticuerpo/fragmento de los mismos tienen una potencia mejorada, opcionalmente en la que los anticuerpos de la presente invención o componentes de anticuerpo/fragmento de los mismos también tienen una eficacia mejorada en comparación con otros anticuerpos conocidos para CD45. Por "potencia mejorada" se entiende que un anticuerpo de la presente invención puede conseguir el mismo nivel de destrucción celular a una concentración/título inferior en comparación con un anticuerpo para CD45 de la técnica anterior. En una forma de

realización, la referencia a una "eficacia mejorada" significa que un anticuerpo de la presente invención puede conseguir un efecto máximo mayor en comparación con un anticuerpo para CD45 de la técnica anterior.

En una forma de realización, los anticuerpos de la presente invención o componentes de anticuerpo/fragmento de los mismos se procesan para proporcionar una afinidad mejorada por un antígeno o antígenos diana y, en particular, por CD45. Tales variantes se pueden obtener mediante una serie de protocolos de maduración de afinidad que incluyen la mutación de las CDR (Yang et al., J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), la transposición de cadenas (Marks et al., Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), el uso de cepas mutantes de E. coli (Low et al J. Mol. Biol, 250, 359-368, 1996), transposición de ADN (Patten et al Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), despliegue de fagos (Thompson et al., J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) y PCR sexual (Crameri et al Nature, 391, 288-291, 1998). Vaughan et al (supra) analizan estos métodos de maduración de afinidad. Los dominios de unión para su uso en la presente invención se pueden generar por cualquier método adecuado conocido en la técnica, por ejemplo, las CDR se pueden tomar de anticuerpos no humanos, incluidos anticuerpos disponibles comercialmente, e injertarse en estructuras humanas o, alternativamente, se pueden preparar anticuerpos quiméricos con regiones variables no humanas y regiones constantes humanas, etc.

Se conocen ejemplos de anticuerpos CD45 en la técnica y se puede emplear un parátipo de dicho anticuerpo en un anticuerpo de la presente invención que tenga más de una especificidad para CD45 o que se haya examinado su adecuación utilizando los métodos descritos en la presente, y posteriormente modificado si es necesario, por ejemplo humanizado, utilizando los métodos descritos en la presente. Se han descrito en la técnica anticuerpos terapéuticos anti-

CD45, por ejemplo anticuerpos anti-CD45 divulgados en el documento US2011/0076270.

El experto puede generar anticuerpos para su uso en los anticuerpos de la invención usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Los polipéptidos de antígeno, para su uso en la generación de anticuerpos, por ejemplo, para inmunizar a un huésped o para su uso en la purificación, tal como en la visualización de fagos, se pueden preparar mediante procesos bien conocidos en la técnica a partir de células huésped manipuladas genéticamente que comprenden sistemas de expresión o se pueden recuperar de fuentes biológicas naturales. En la presente solicitud, el término "polipéptidos" incluye péptidos, polipéptidos y proteínas. Se utilizan indistintamente a menos que se especifique lo contrario. En algunos casos, el polipéptido antígeno puede formar parte de una proteína mayor, tal como una proteína de fusión, por ejemplo fusionada a una etiqueta de afinidad o similar. En una forma de realización, el huésped se puede inmunizar con una célula transfectada con CD45, por ejemplo, que expresa CD45 en su superficie.

Los anticuerpos generados contra un polipéptido antígeno se pueden obtener, cuando sea necesaria la inmunización de un animal, mediante la administración de los polipéptidos a un animal, preferentemente un animal no humano, utilizando protocolos bien conocidos y rutinarios, ver por ejemplo Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Inglaterra, 1986). Se pueden inmunizar muchos animales de sangre caliente, tales como conejos, ratones, ratas, ovejas, vacas, camellos o cerdos. Sin embargo, los ratones, conejos, cerdos y ratas generalmente son los más adecuados. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica, como la técnica del hibridoma

(Kohler & Milstein, 1975, *Nature*, 256:495-497), la técnica del trioma, la técnica del hibridoma de células B humanas (Kozbor et al 1983, *Immunology Today*, 4:72) y la técnica del hibridoma EBV (Cole et al *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985).

Los anticuerpos también se pueden generar utilizando métodos de anticuerpo de linfocito único mediante la clonación y expresión de los ADNc de región variable de inmunoglobulina generados a partir de linfocitos únicos seleccionados para la producción de anticuerpos específicos mediante, por ejemplo, los métodos descritos por Babcook, J. et al 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(15):7843-7848; WO 92/02551; WO 2004/051268 y WO 2004/106377. Los anticuerpos para uso en la presente invención también se pueden generar utilizando diversos métodos de despliegue en fagos conocidos en la técnica. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención tiene al menos dos parátomos diferentes específicos para CD45 y puede ser que primero se obtengan anticuerpos que reconozcan un parátomo de CD45 y después, por ejemplo, se utilicen dos de esos anticuerpos para generar un anticuerpo de la presente invención capaz de unirse específicamente al menos a dos parátomos diferentes de CD45. Puede ser, por ejemplo, que se produzcan múltiples anticuerpos contra CD45 utilizando los métodos analizados en la presente y luego se analizan para determinar propiedades deseables, tales como afinidades de unión. A continuación, los mejores candidatos se pueden utilizar para generar un anticuerpo de la presente invención.

En un ejemplo, los sitios de unión a antígeno, y en particular las regiones variables, de los anticuerpos de acuerdo con la invención están humanizados. Humanizado (que incluye anticuerpos injertados con CDR), tal como se emplea en la presente, se refiere a moléculas que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de una

especie no humana y una región estructural de una molécula de inmunoglobulina humana. Se apreciará que puede que solo sea necesario transferir los residuos determinantes de la especificidad de las CDR en lugar de toda la CDR (ver, por ejemplo, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34). Sin embargo, en una forma de realización preferida, se trasplantan la CDR o CDR completas. Los anticuerpos humanizados pueden comprender opcionalmente uno o más residuos estructurales derivados de la especie no humana de la que se derivaron las CDR. Como se utiliza en la presente, el término "molécula de anticuerpo humanizado" se refiere a una molécula de anticuerpo en la que la cadena pesada y/o liviana contiene una o más CDR (incluyendo, si se desea, una o más CDR modificadas) de un anticuerpo donante (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal murino) injertada en un estructura de región variable de cadena pesada y/o liviana de un anticuerpo aceptor (por ejemplo, un anticuerpo humano). Para una revisión, ver Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998. En una forma de realización, en lugar de transferir la CDR entera, solo se transfieren a la estructura de anticuerpo humano uno o más de los residuos determinantes de la especificidad de cualquiera de las CDR descritas en la presente (ver, por ejemplo, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34). En una forma de realización, solo los residuos determinantes de la especificidad de una o más de las CDR descritas en la presente se transfieren a la estructura del anticuerpo humano. En otra forma de realización, solo se transfieren a la estructura de anticuerpo humano los residuos determinantes de la especificidad de cada una de las CDR descritas en la presente.

Cuando se injertan las CDR o los residuos determinantes de la especificidad, se puede utilizar cualquier secuencia estructural de región variable aceptora adecuada teniendo en cuenta la clase/tipo del anticuerpo donante del que se

derivan las CDR, incluidas las regiones estructurales de ratón, primate y humana. De manera adecuada, el anticuerpo humanizado de acuerdo con la presente invención tiene un dominio variable que comprende regiones estructural aceptoras humanas así como una o más de las CDR proporcionadas en la presente. Los ejemplos de estructuras humanas que se pueden usar en la presente invención son KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY y POM (Kabat et al supra). Por ejemplo, KOL y NEWM se pueden utilizar para la cadena pesada, REI se puede utilizar para la cadena liviana y EU, LAY y POM se pueden utilizar tanto para la cadena pesada como para la cadena liviana. También se pueden utilizar secuencias de la línea germinal humana, disponibles en: <http://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/vbase/list2.php>.

En una molécula de anticuerpo humanizado de la presente invención, las cadenas pesadas y ligeras aceptoras no se tienen que derivar necesariamente del mismo anticuerpo y pueden, si se desea, comprender cadenas compuestas que tengan regiones estructurales derivadas de diferentes cadenas. No es necesario que las regiones estructurales tengan exactamente la misma secuencia que las del anticuerpo aceptor. Por ejemplo, los residuos inusuales se pueden cambiar por residuos más frecuentes para esa clase o tipo de cadena aceptora. Alternativamente, se pueden cambiar residuos seleccionados en las regiones estructurales aceptoras para que se correspondan con el residuo que se encuentra en la misma posición en el anticuerpo donante (ver Reichmann et al 1998, Nature, 332, 323-324). Dichos cambios se deben limitar al mínimo necesario para recuperar la afinidad del anticuerpo donante. En el documento WO 91/09967 se expone un protocolo para seleccionar los residuos en las regiones de la estructura aceptora que puede ser necesario cambiar. Los derivados de estructuras pueden tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos reemplazados con un

aminoácido alternativo, por ejemplo con un residuo donante. Los residuos donantes son residuos del anticuerpo donante, es decir, el anticuerpo del que se derivaron originalmente las CDR, en particular se adopta el residuo en una ubicación correspondiente de la secuencia donante. Los residuos donantes se pueden reemplazar con un residuo adecuado derivado de una estructura receptora humana (residuos aceptores).

En una forma de realización, la invención se extiende a una secuencia de anticuerpo divulgada en la presente, en particular secuencias humanizadas divulgadas en la presente.

En un ejemplo, los dominios de unión están humanizados.

En un ejemplo, una o más CDR proporcionadas en la presente se pueden modificar para eliminar residuos o sitios indeseables, tales como residuos de cisteína o sitios de isomerización de ácido aspártico (D) o sitios de desamidación de asparagina (N). En un ejemplo, se puede eliminar un sitio de desamidación de asparagina de una o más CDR al mutar el residuo de asparagina (N) y/o un residuo vecino por cualquier otro aminoácido adecuado.

El experto puede probar variantes de CDR o secuencias humanizadas en cualquier ensayo adecuado, como los descritos en la presente, para confirmar que se mantiene la actividad.

La unión específica al antígeno se puede analizar mediante cualquier ensayo adecuado, por ejemplo ELISA o métodos de resonancia de plasmón superficial tal como BIAcore, en los que se puede medir la unión al antígeno (CD45). Dichos ensayos pueden utilizar CD45 natural aislado o recombinante o una proteína/polipéptido de fusión adecuado. En un ejemplo, la unión se mide utilizando CD45 recombinante (SEQ ID NO: 127 o aminoácidos 23-1304 de SEQ ID NO: 127) mediante, por ejemplo, resonancia de plasmón superficial, tal como BIAcore. Alternativamente, las proteínas se pueden expresar en una célula, tal como una

célula HEK, y la afinidad se puede medir empleando una determinación de afinidad basada en citometría de flujo. En una forma de realización, cuando se desea determinar las propiedades de un sitio de unión a antígeno, en particular parátipo, por sí solo, se genera un anticuerpo solo con ese parátipo. Por ejemplo, se genera el mismo formato de anticuerpo que un anticuerpo de la invención con dos especificidades diferentes, pero con solo una de las especificidades para CD45 presente. En una forma de realización, se pueden generar anticuerpos para cada uno de los parátipos contra CD45 de un anticuerpo de la presente invención con al menos dos parátipos, por ejemplo para permitir que se determine la afinidad de cada parátipo o para determinar si los parátipos muestran o no bloqueo cruzado entre sí. En una forma de realización se mide la capacidad de unirse específicamente a la región extracelular de CD45, por ejemplo utilizando la proteína de SEQ ID NO: 113. En una forma de realización, se generan anticuerpos monovalentes, tales como ScFv, para realizar la comparación.

Los grados de identidad y similitud se pueden calcular fácilmente (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991, el software BLAST™ disponible en NCBI (Altschul, S.F. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet. 3:266-272. Madden, T.L. et al., 1996, Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F. et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7:649-656,).

La presente invención también se extiende a secuencias polipeptídicas novedosas divulgadas en la presente y secuencias al menos 80% similares o idénticas a las mismas, por ejemplo 85% o mayor, tal 90% o mayor, en particular 95%, 96%, 97%, 98% o 99% o mayor similitud o identidad. En una forma de realización, una secuencia puede tener al menos un 99% de identidad de secuencia con al menos una de las secuencias específicas proporcionadas en la presente. "Identidad", como se utiliza en la presente, indica que en cualquier posición particular en las secuencias alineadas, el residuo de aminoácido es idéntico entre las secuencias. "Similitud", tal como se utiliza en la presente, indica que, en cualquier posición particular de las secuencias alineadas, el residuo de aminoácido es de tipo similar entre las secuencias. Por ejemplo, la leucina se puede sustituir con isoleucina o valina. Otros aminoácidos que a menudo se pueden sustituir entre sí incluyen, pero no se limitan a:

- - fenilalanina, tirosina y triptofano (aminoácidos con cadenas laterales aromáticas);
- lisina, arginina e histidina (aminoácidos con cadenas laterales básicas);
- aspartato y glutamato (aminoácidos con cadenas laterales ácidas);
- asparagina y glutamina (aminoácidos con cadenas laterales amidas); y
- cisteína y metionina (aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre).

Se apreciará que este aspecto de la invención también se extiende a variantes de estos anticuerpos anti-CD45 incluyendo aquellos en los que se han mutado aminoácidos en las CDR para eliminar uno o más residuos de isomerización, desamidación, sitio de glucosilación o cisteína como se describe en la presente.

Anticuerpos preferidos con modificaciones FALA, LALA y botón en ojal

Cabe señalar que las posiciones de los residuos de aminoácidos que figuran en esta sección se indican utilizando la numeración UE en lugar de la numeración Kabat.

En una forma de realización particularmente preferida de la invención, el anticuerpo empleado comprende cadenas pesadas con modificaciones FALA o LALA. En particular, las modificaciones FALA y LALA alteran la unión al receptor Fc.

En otra forma de realización preferida, el anticuerpo comprende una modificación en la región bisagra del anticuerpo y, en particular, una modificación en la posición 228, con preferencia 228P. En una forma de realización, un anticuerpo tiene una cadena pesada que comprende modificaciones en las posiciones 228, 234 y 235. En una forma de realización especialmente preferida, las cadenas pesadas de un anticuerpo de la presente invención comprenderán modificaciones FALA S228P, F234A y L235A. En una forma de realización especialmente preferida de la presente invención, el anticuerpo proporcionado será un anticuerpo de isotipo IgG4(P) y comprenderá tales modificaciones.

En otra forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención comprenderá las denominadas modificaciones "botón-en-oyal ". En una forma de realización, una cadena pesada del anticuerpo comprende una modificación en T366 y la otra en T366, L368, e Y407 y en particular para obtener formas complementarias en las dos cadenas pesadas diferentes que significan que se aparean preferentemente, en lugar de aparearse dos cadenas pesadas idénticas. En particular, la cadena pesada para una especificidad puede tener una modificación de "botón "T366W, mientras que la otra tiene modificaciones de "oyal "T366S, L368A, Y407V. En una forma de realización particularmente

preferida, el anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo de isotipo IgG4 y tiene tales modificaciones.

En otra forma de realización especialmente preferida de la presente invención, se combinan las modificaciones FALA, de bisagra y "botón en ojal". En una forma de realización preferida, se combinan en el contexto de un anticuerpo de isotipo IgG4. En una forma de realización, una cadena pesada del anticuerpo tiene modificaciones en las posiciones 228, 234, 235 y 355. En otra forma de realización, una cadena pesada comprende modificaciones en las posiciones 228, 234, 235, 366, 368 y 407. Por ejemplo, en una forma de realización, una cadena pesada tiene modificaciones S228P, F234A, L235A, T366W (de modo que tanto modificación FALA como de "botón") y con preferencia la otra tiene modificaciones S228P, F234A, L235A, T366S, L368A, Y407V (de modo que tanto modificaciones tanto FALA como de "ojal").

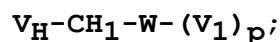
En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo IgG4(P) de FALA. En otra forma de realización especialmente preferida, se trata de un anticuerpo IgG4(P) FALA de botón en ojal. En otra, se trata de un anticuerpo IgG4(P) LALA de botón en ojal.

En otra forma de realización, los formatos anteriores se pueden combinar con otros formatos/modificaciones analizados en la presente. Por ejemplo, también pueden incluir las modificaciones analizadas en la presente para eliminar la unión a Proteína A en las posiciones 95 y 96. En otra forma de realización, pueden incluir una cadena liviana común y también pueden incluir la modificación de unión a Proteína A.

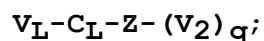
Formatos de anticuerpos preferidos adicionales que incluyen BYbe y TrYbe

El un aspecto, se proporciona una molécula de anticuerpo que comprende o consiste en

- a) una cadena polipeptídica de fórmula (VII):



- b) una cadena polipeptídica de fórmula (VIII):



donde:

V_H representa un dominio variable de la cadena pesada;

CH_1 representa un dominio de una región constante de la cadena pesada, por ejemplo, dominio 1 del mismo;

W representa un enlace o ligador, por ejemplo un ligador de aminoácidos, excepto si p o q es cero, en tal caso serán cero;

Z representa un enlace o ligador, por ejemplo un ligador de aminoácidos;

V_1 representa un dab, scFv, dsscFv o dsFv;

V_L representa un dominio variable, por ejemplo un dominio variable de cadena liviana;

C_L representa dominio de una región constante, por ejemplo un dominio de la región constante de cadena liviana tal como C_{κ} ;

V_2 representa un dab, scFv, dsscFv o dsFv;

p es 0 o 1;

q es 0 o 1; y

cuando p es 1 q es 0 o 1 y cuando q es 1 p es 0 o 1 i.e. p y q no representan 0,

donde al menos dos de los sitios de unión a antígeno del anticuerpo son parátomos diferentes contra CD45, cada uno que reconoce epítomos diferentes contra CD45, donde al menos uno de V_H y V_L son un par de regiones variables derivadas de 17415 o un par de regiones variables derivadas de 17552.

En un ejemplo, los dominios de unión específicos para CD45 se seleccionan entre al menos dos de V_1 , V_2 o V_H/V_L .

En una forma de realización q es 0 y p es 1.

En una forma de realización q es 1 y p es 1.

En una forma de realización V_1 es un dab y V_2 es un dab y juntos forman un dominio de unión único de un par cooperativo de regiones variables, tal como un par de V_H/V_L cognado, que están opcionalmente unidos por un puente disulfuro.

En una forma de realización V_H y V_L son específicos para CD45.

En una forma de realización el V_1 es específico para CD45.

En una forma de realización el V_2 es específico para CD45.

En una forma de realización el V_1 y V_2 juntos (por ejemplo como dominio de unión) son específicos para CD45 y V_H y V_L son específicos para CD45.

En una forma de realización el V_1 es específico para CD45.

En una forma de realización el V_2 es específico para, CD45.

En una forma de realización el V_1 y V_2 juntos (por ejemplo, como un dominio de unión) son específicos para CD45 y V_H y V_L son específicos para CD45.

En una forma de realización el V_1 es específico para CD45, V_2 es específico para CD45 y V_H y V_L son específicos para CD45.

V_1 , V_2 , V_H y V_L en los constructos anteriores puede representar cada uno un dominio de unión e incorporar cualquiera de las secuencias proporcionadas en la presente.

W y Z puede representar cualquier ligador adecuado, por ejemplo W y Z pueden ser de modo independiente SGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 67) o SGGGTGGGGS (SEQ ID NO:114).

En una forma de realización, cuando V_1 y/o V_2 son un dab, dsFv o un dsscFv, el enlace disulfuro entre los dominios variables V_H y V_L de V_1 y/o V_2 se forma entre las posiciones V_H44 y V_L100 .

En una forma de realización preferida de la invención, un anticuerpo de la invención está en el formato de anticuerpo BYbe. Un anticuerpo de formato BYbe comprende un Fab unido a solo un scFv o dsscFv, como se describe, por ejemplo, en WO 2013/068571, y Dave et al, (2016) Mabs, 8(7): 1319-1335. Por lo tanto, por ejemplo en una forma de realización preferida en la fórmula dada anteriormente uno de $(V1)_p$ y $(V2)_q$ será un ScFv o un dsscFv y el otro no será nada, de modo que el anticuerpo de formato BYbe comprende un Fab y solo un scFv o dsscFv. Para cualquiera de los $(V1)_p$ y $(V2)_q$ que sea cero, el W o Z correspondiente tampoco será nada y el otro será un enlace o un ligador. Con preferencia, el anticuerpo de formato BYbe comprende un Fab y un dsscFv. En tales anticuerpos de formato BYbe los dos sitios de unión a antígeno pueden ser con preferencia ambos específicos para CD45, correspondiendo los dos a los dos parátomos diferentes para epítomos diferentes de CD45.

En otra forma de realización especialmente preferida de la invención, el anticuerpo tiene el formato TrYbe. Un formato TrYbe comprende un Fab unido a dos scFv o dsscFv, cada scFv o dsscFv que la misma diana o una diana diferente (por ejemplo, un scFv o dsscFv que une una diana terapéutica y un scFv o dsscFv que aumenta la vida media uniendo, por ejemplo, albúmina). Tales fragmentos de anticuerpo se describen en el documento WO 2015/197772. Con respecto a la fórmula anterior, para un anticuerpo TrYbe, p y q serán uno, y $V1$ y $V2$ se seleccionarán independientemente entre un ScFv

y un dsscFv. En una forma de realización preferida, V1 y V2 serán ambos un ScFv. En otra forma de realización, V1 y V2 serán ambos un dsscFv. En otra forma de realización, uno de los V1 y V2 será un ScFv y el otro un dsscFv. Al menos dos de los sitios de unión a antígeno del TrYbe serán específicos para CD45, y el anticuerpo que comprende dos parátomos diferentes, cada uno específico para un epítomo diferente de CD45. En una forma de realización particularmente preferida, el tercer sitio de unión a antígeno será específico para la albúmina y, en particular, uno de V1 y V2 será específico para la albúmina. Por ejemplo, VH/VL puede ser específico para CD45 (por ejemplo, para un primer epítomo de CD45), uno de V1 y V2 puede ser específico para CD45 (por ejemplo, para un segundo epítomo de CD45), y el otro de V1 y V2 puede ser específico para albúmina.

En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención comprenderá al menos un parátomo específico para la albúmina. En una forma de realización, el anticuerpo será un anticuerpo en formato TrYbe que comprenderá los dos parátomos específicos para un epítomo diferente de CD45 y también un tercer parátomo específico para la albúmina. Los ejemplos de secuencias de anticuerpos de unión a albúmina que se pueden usar para unirse específicamente a albúmina incluyen los divulgados en el documento WO 2017/191062 cuya totalidad se incorpora por referencia, en particular en lo que se refiere a secuencias de unión a albúmina. Por lo tanto, un anticuerpo de la invención puede comprender un parátomo de uno de los anticuerpos específicos de albúmina del documento WO 2017/191062.

En una forma de realización alternativa, un anticuerpo como el descrito anteriormente solo tiene una especificidad para CD45, en lugar de al menos dos diferentes. Por ejemplo, uno de los sitios de unión a antígeno del anticuerpo puede ser específico para CD45. En otra forma de realización, dos

de los sitios de unión a antígeno son específicos para CD45, pero tienen la misma especificidad. En otra forma de realización, los tres sitios de unión a antígeno de un anticuerpo descrito anteriormente tienen la misma especificidad para CD45. En otra forma de realización, dos de los sitios de unión a antígeno tienen la misma especificidad para CD45 y el tercero es específico para albúmina sérica.

En una forma de realización preferida particular, al menos una de las regiones variables en las moléculas anteriores será una región variable de 17415 o 17552. En una forma de realización, al menos un dominio de unión del antígeno estará presente que comprende una región variable de cadena liviana y pesada derivada 17415. En una forma de realización, al menos un dominio de unión del antígeno estará presente que comprende una región variable de la cadenas liviana y pesada derivada de 17552. En una forma de realización, estarán presentes un sitio de unión al antígeno derivado de 17415 y un sitio de unión al antígeno derivado de 17552.

Puentes disulfuro

Cuando uno o más pares de regiones variables en el anticuerpo de la presente invención comprenden un enlace disulfuro entre VH y VL, este puede estar en cualquier posición adecuada, tal como entre dos de los residuos enumerados a continuación (a menos que el contexto indique lo contrario, en la siguiente lista se emplea la numeración de Kabat). Siempre que se haga referencia a la numeración de Kabat, la referencia pertinente es Kabat et al., 1987, en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, US Department of Health and Human Services, NIH, USA.

En una forma de realización, cuando V₁ y/o V₂ son un dsFv o un dsscFv en las fórmulas analizadas anteriormente, el enlace disulfuro entre los dominios variables V_H y V_L de V₁ y/o V₂ está entre dos de los residuos enumerados a continuación (a menos que el contexto indique lo contrario, se emplea la numeración de Kabat en la lista siguiente). Cuando se hace referencia a la numeración de Kabat, la referencia pertinente es Kabat et al., 1987, en Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, USA.

En una forma de realización el enlace disulfuro está en una posición seleccionada del grupo que comprende:

- V_H37 + V_L95C ver por ejemplo Protein Science 6, 781-788 Zhu et al (1997);
- V_H44 + V_L100 ver por ejemplo; Biochemistry 33 5451-5459 Reiter et al (1994); o Journal of Biological Chemistry Vol. 269 No. 28 pp,18327-18331 Reiter et al (1994); o Protein Engineering, vol,10 no,12 pp,1453-1459 Rajagopal et al (1997);
- V_H44 + V_L105 ver por ejemplo J Biochem. 118, 825-831 Luo et al (1995);
- V_H45 + V_L87 ver por ejemplo Protein Science 6, 781-788 Zhu et al (1997);
- V_H55 + V_L101 ver por ejemplo FEBS Letters 377 135-139 Young et al (1995);
- V_H100 + V_L50 ver por ejemplo Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber et al (1990);
- V_H100b + V_L49;
- V_H98 + V_L 46 ver por ejemplo Protein Science 6, 781-788 Zhu et al (1997);
- V_H101 + V_L46;

- V_H105 + V_L43 ver por ejemplo; Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 90 pp,7538-7542 Brinkmann *et al* (1993); o Proteins 19, 35-47 Jung *et al* (1994), y
- V_H106 + V_L57 ver por ejemplo FEBS Letters 377 135-139 Young *et al* (1995)

y una position correspondiente en par de región variable ubicado en la molécula.

En una forma de realización, el enlace disulfuro se forma entre las posiciones V_H44 y V_L100.

Los pares de aminoácidos enumerados anteriormente se encuentran en las posiciones propicias para su reemplazo con cisteínas, de modo que se puedan formar enlaces disulfuro. Las cisteínas se pueden manipular genéticamente en estas posiciones deseadas mediante técnicas conocidas. En una forma de realización, una cisteína manipulada genéticamente de acuerdo con la presente divulgación se refiere a que se ha reemplazado el residuo natural en una determinada posición de aminoácido por un residuo de cisteína.

La introducción de cisteínas manipuladas genéticamente se puede realizar mediante cualquier método conocido en la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, mutagénesis de superposición por extensión de PCR, mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis de casete. La mutagénesis en casete se puede realizar según Wells *et al*, 1985, Gene, 34:315-323. Alternativamente, las mutantes se pueden obtener mediante síntesis total del gen mediante apareamiento, ligación y amplificación por PCR y clonación de oligonucleótidos superpuestos.

El documento WO 2015/197772 establece en detalle ubicaciones preferidas para puentes disulfuro en relación con los anticuerpos de formato BYbe y TrYbe.

Como se analiza en la presente, la alteración de la capacidad de los residuos en las regiones bisagra de los

anticuerpos es una forma potencial de influir en la unión a CD45 y se puede emplear en la presente invención.

Anticuerpos con formato anclaje

En una forma de realización, un anticuerpo de la invención puede comprender dos partes unidas por un anclaje heterodimérico. Por ejemplo, un anticuerpo de la invención puede comprender dos partes, cada una de las cuales comprende un fragmento de anticuerpo diferente con un parátipo diferente para CD45 y también la región de anclaje que le permite formar la molécula de anticuerpo global con la otra mitad del anticuerpo. En una forma de realización, el anticuerpo de la invención está en el formato de anticuerpo Fab-X/Fab-Y (también denominado formato Fab-Kd-Fab) tal como, por ejemplo, se describe en el documento WO 2017/093402, ver, por ejemplo, la Figura 3. El formato de anticuerpo Fab-X/Fab-Y es particularmente útil para el análisis porque permite el análisis rápido de permutaciones de diferentes parátipos para CD45.

Por lo tanto, en una forma de realización, una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención es un anticuerpo que comprende al menos dos parátipos diferentes específicos para diferentes epítipos de CD45 que tienen la fórmula A-X:Y-B en la que:

A-X es una primera proteína de fusión;

Y-B es una segunda proteína de fusión;

X:Y es un anclaje heterodimérico;

: es una interacción de unión entre X y Y;

A es un primer componente proteico del anticuerpo seleccionado entre un fragmento Fab o Fab';

B es un segundo componente proteico del anticuerpo seleccionado entre un Fab o Fab';

X es un primer compañero de unión de un par de unión seleccionado independientemente entre un antígeno o un anticuerpo o fragmento de unión del mismo; e

Y es un segundo compañero de unión del par de unión seleccionado independientemente de un antígeno o un anticuerpo o un fragmento de unión del mismo;

con la condición de que cuando X es un antígeno, Y es un anticuerpo o fragmento de unión del mismo específico del antígeno representado por X y cuando Y es un antígeno, X es un anticuerpo o fragmento de unión del mismo específico del antígeno representado por Y.

Ejemplos ilustrativos de anticuerpos y secuencias de albúmina

Un anticuerpo con un sitio de unión a antígeno específico para la albúmina utilizado en la presente invención puede tener las siguientes secuencias de CDR:

SEQ ID NO: 130 - CDRH1	GIDLSNYAIN
SEQ ID NO: 131 - CDRH2	IIWASGTTFYATWAKG
SEQ ID NO: 132 - CDRH3	TVPGYSTAPYFDL
SEQ ID NO: 133 - CDRL1	QSSPSVWSNFLS
SEQ ID NO: 134 - CDRL2	EASKLTS
SEQ ID NO: 135 - CDRL3	GGGYSSISDTT

Entre los ejemplos de especificidades de unión a albúmina que se pueden adaptar para usar se incluyen los de los documentos WO 05/117984 y WO 2017/191062, que se incorporan por referencia tanto en su totalidad como en relación con las especificidades de anticuerpos de unión a albúmina.

Moléculas efectoras

Un anticuerpo de la invención se puede conjugar con una molécula efectora. Por lo tanto, si se desea en particular un anticuerpo, para su uso en la presente invención se puede conjugar con una o más moléculas efectoras. Se apreciará que la molécula efectora puede comprender una única molécula efectora o dos o más moléculas de este tipo unidas de tal manera que formen un resto único que se pueda unir a los anticuerpos. Cuando se desea obtener un anticuerpo de acuerdo con la presente invención unido a una molécula efectora, se puede preparar mediante procedimientos químicos o de ADN recombinante estándar en los que el anticuerpo se une directamente o mediante un agente de acoplamiento a la molécula efectora. Las técnicas para conjugar tales moléculas efectoras con anticuerpos son bien conocidas en la técnica (ver, Hellstrom et al., *Controlled Drug Delivery*, 2nd Ed., Robinson et al., eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.*, 62:119-58 y Dubowchik et al., 1999, *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 67-123). Los procedimientos químicos particulares incluyen, por ejemplo, los descritos en los documentos WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 y WO 03/031581. Alternativamente, cuando la molécula efectora es una proteína o polipéptido, la unión se puede obtener usando procedimientos de ADN recombinante, por ejemplo como se describe en WO 86/01533 y EP0392745. En una forma de realización los anticuerpos de la presente invención pueden comprender una molécula efectora. El término molécula efectora, tal como se utiliza en la presente, incluye, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, toxinas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo enzimas, anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, polímeros sintéticos o naturales, ácidos nucleicos y fragmentos de los mismos, por ejemplo ADN, ARN y fragmentos de los mismos, radionucleidos, en particular radioyoduro,

radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos indicadores, tales como compuestos fluorescentes o compuestos que se pueden detectar mediante espectroscopia de RMN o ESR.

Los ejemplos de moléculas efectoras pueden incluir citotoxinas o agentes citotóxicos, incluido cualquier agente que sea perjudicial para las células (por ejemplo, que las mate). Los ejemplos incluyen combrestatinas, dolastatinas, epotilonas, estaurosporina, maytansinoides, espongistatinas, rizoxina, halicondrinas, roridinas, hemiasterlinas, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxiantracina diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puromicina y sus análogos u homólogos. Las moléculas efectoras también incluyen, pero no se limitan a, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo decarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo mecloretamina, tiotepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (antes daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (antes actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), calicheamicinas o duocarmicinas) y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina y vinblastina)

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

inhibidores de la topoisomerasa I, taxoides y suramina. Otras moléculas efectoras incluyen proteínas, péptidos y enzimas. Las enzimas de interés incluyen, pero no se limitan a, enzimas proteolíticas, hidrolasas, liasas, isomerasas, transferasas. Las proteínas, polipéptidos y péptidos de interés incluyen, pero no se limitan a, inmunoglobulinas, toxinas tales como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas o toxina diftérica, una proteína tal como insulina, factor de necrosis tumoral (TNF), α -interferon, β -interferón, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de plaquetas o activador tisular del plasminógeno, un agente trombótico o un agente antiangiogénico, por ejemplo, angiostatina o endiostatina, o, un modificador de la respuesta biológica tal como una linfoquina, interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-2 (IL-2), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de crecimiento nervioso (NGF) u otro factor de crecimiento e inmunoglobulinas.

Otras moléculas efectoras pueden incluir sustancias detectables útiles, por ejemplo, en el diagnóstico. Entre los ejemplos de sustancias detectables se incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, nucleidos radiactivos, metales emisores de positrones (para su uso en tomografía por emisión de positrones) e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Ver en general la patente de EE.UU. N.º 4,741,900 sobre iones metálicos que se pueden conjugar con anticuerpos para su uso en diagnósticos. Las enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta galactosidasa o acetilcolinesterasa; los grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina, avidina y biotina; los materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína,

isotiocianato de fluoresceína, rodamina, fluoresceína diclorotriazinilamina, cloruro de dansilo y ficoeritrina; los materiales luminiscentes adecuados incluyen luminol; los materiales bioluminiscentes adecuados incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y los nucleidos radiactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In y ^{99}Tc .

En otra forma de realización, la molécula efectora puede aumentar o disminuir la vida media del anticuerpo in vivo, y/o reducir la inmunogenicidad y/o mejorar la administración a través de una barrera epitelial al sistema inmunitario. Los ejemplos de moléculas efectoras adecuadas de este tipo incluyen polímeros, albúmina, proteínas de unión a albúmina o compuestos de unión a albúmina tal como los descritos en el documento WO 05/117984. Cuando la molécula efectora es un polímero, puede ser, en general, un polímero sintético o natural, por ejemplo un polímero de polialquileno, polialquileno o polioxialquileno de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido o un polisacárido ramificado o no ramificado, por ejemplo un homo- o heteropolisacárido. Los sustituyentes opcionales específicos que pueden estar presentes en los polímeros sintéticos mencionados incluyen uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi. Los ejemplos específicos de polímeros sintéticos incluyen poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), poli(vinilalcohol) o sus derivados de cadena recta o ramificada opcionalmente sustituidos, especialmente poli(etilenglicol) opcionalmente sustituido, tal como metoxipoli(etilenglicol) o sus derivados.

Un anticuerpo de la presente invención se puede conjugar con una molécula que modula o altera la vida media sérica. Un anticuerpo de la invención se puede unir específicamente a la albúmina, por ejemplo para modular la vida media sérica. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención también incluirá un parátipo específico para la albúmina. En

otra forma de realización, un anticuerpo de la invención puede incluir un ligador peptídico que es un péptido de unión a albúmina. Se incluyen ejemplos de péptidos de unión a albúmina en los documentos WO2015/197772 y WO2007/106120, cuya totalidad se incorpora por referencia.

En otra forma de realización, un anticuerpo de la invención no está conjugado con una molécula efectora. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención no es un conjugado anticuerpo-fármaco. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención no está conjugado con una toxina, tal como conjugado con una toxina a través de un ligador. En otra forma de realización, un anticuerpo de la invención no está conjugado con un radioisótopo. En otra forma de realización, un anticuerpo de la invención no está conjugado con un agente para la formación de imágenes.

En una forma de realización preferida, es la capacidad de un anticuerpo de la presente invención de unirse específicamente a CD45 lo que provoca la muerte celular y no la capacidad de una molécula efectora conjugada.

Muerte y destrucción celular

En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es capaz de inducir la muerte celular en una célula diana que expresa CD45. Los tipos de muerte celular que se pueden inducir para destruir células diana incluyen apoptosis intrínseca, apoptosis extrínseca, necrosis impulsada por transición de permeabilidad mitocondrial (MPT), necroptosis, ferroptosis, piroptosis, partanatos, muerte celular entótica, muerte celular NETótica, muerte celular dependiente de lisosoma, muerte celular dependiente de autofagia, muerte celular inmunogénica, senescencia celular y catástrofe mitótica. En

una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención se utiliza para destruir células diana.

En una forma de realización, la célula diana será una célula que expresa CD45, y en particular en la superficie de la célula. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención, puede inducir la muerte celular en al menos las células T. En otra forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención, puede inducir la muerte celular en al menos células B. En otra forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención, puede ser capaz de inducir la muerte celular en células B y T. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la presente invención puede inducir la muerte celular en células madre hematopoyéticas. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no induce la muerte celular en todas las células inmunitarias, por ejemplo, no en granulocitos, macrófagos y monocitos. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención, induce la muerte celular en todas las células inmunitarias aparte de los granulocitos, macrófagos y monocitos. En una forma de realización, el efecto de inducir la muerte celular en las células madre hematopoyéticas es eficaz para que todas las células hematopoyéticas puedan ser reemplazadas. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención se utiliza para destruir las células diana antes mencionadas mediante la inducción de la muerte celular.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención, puede tener diferente selectividad para diferentes células que expresan CD45. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención, puede ser capaz de inducir la muerte celular de células T más eficientemente que la muerte celular de células B.

En otra forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención induce la muerte celular pero no provoca una liberación significativa de citoquinas. En otra forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención induce la muerte celular pero no muestra funciones efectoras Fc, por ejemplo porque el anticuerpo carece de una región Fc o tiene una región Fc con modificaciones silenciadoras.

Citoquinas

En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la presente invención no provoca una liberación significativa de citoquinas. En una forma de realización especialmente preferida, un anticuerpo de la presente invención es capaz de inducir la muerte celular en una célula diana, pero no provoca una liberación significativa de citoquinas. La reducción o ausencia de liberación de citoquinas puede significar que un sujeto no sufre una inflamación indeseada inducida por citoquinas. Por ejemplo, un tratamiento de la presente invención puede destruir las células diana en un sujeto sin desencadenar inflamación y, en particular, sin la denominada "tormenta de citoquinas" asociada a algunos tratamientos.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no induce significativamente la liberación de uno o más de Interferón-gamma, IL-6, TNF-alfa, IL-1Beta, MCP1 y IL-8. En una forma de realización preferida, un anticuerpo de la invención no provoca la liberación significativa de cualquiera de estas citoquinas. En otra forma de realización, un anticuerpo no induce significativamente la liberación de uno o más de CCL2, IL-1RA, IL-6, y IL-8. En otra forma de realización preferida, no induce significativamente la liberación de cualquiera de

estas citoquinas. En una forma de realización, tales niveles serán en el caso para uno o más de Interferón-gamma, IL-6, TNF-alfa, IL-1Beta, MCP1 y IL-8. En otra forma de realización, tales niveles serán el caso para uno o más de CCL2, IL-1RA, IL-6, y IL-8. En otra forma de realización tales niveles se observarán en al menos uno de CCL2, IL-1RA, IL-6, IL-8, IL-10, y IL-11. En otra forma de realización, tales niveles serán el caso para al menos uno de CCL2, IL-1RA, IL-6, y IL-8.

La liberación de citoquinas se puede medir mediante cualquier ensayo adecuado. Por ejemplo, la capacidad de un anticuerpo de la invención para provocar la liberación de citoquinas se puede determinar mediante el cultivo de células in vitro con el anticuerpo y midiendo la liberación de citoquinas. En una forma de realización, se incuba sangre entera con el anticuerpo y luego se miden los niveles de citoquinas, por ejemplo cualquiera de las citoquinas mencionadas anteriormente. En otra forma de realización, se pueden incubar leucocitos aislados de una muestra de sangre entera con el anticuerpo de la presente invención y medir el nivel de citoquinas. Alternativamente, puede ser que el nivel de citoquina se mida en una muestra de un sujeto al que se le ha administrado un anticuerpo de la presente invención, en particular el nivel de citoquina se puede medir en una muestra de suero de un sujeto.

En una forma de realización, no "inducir significativamente" la liberación de citoquinas significa que un anticuerpo de la invención no induce la liberación de citoquinas más de cinco, cuatro, tres o dos veces de lo observado con un control negativo, por ejemplo en comparación con un control negativo de tratamiento in vitro con PBS solo. En algunas formas de realización, el nivel de liberación de citoquinas se comparará con un control positivo, por ejemplo tratamiento in vitro con Campath. En una forma de

realización, un anticuerpo de la presente invención desencadenará no más del 50%, 40%, 30%, 20%, 10% o menos en comparación con lo observado con el tratamiento con Campath. En una forma de realización, el nivel de liberación de citoquinas observado con un anticuerpo de la presente invención será inferior a una décima parte del observado con Campath. En una forma de realización, el nivel de liberación de citoquinas después de la incubación con Campath será al menos el doble, triple, cuatro veces, cinco veces, diez veces o más que el observado después de la incubación con un anticuerpo de la presente invención. En una forma de realización, después de la incubación de sangre entera durante 24 horas, el nivel observado con Campath será esos niveles en comparación con un anticuerpo de la presente invención.

En otra forma de realización, el de comparación para definir la no inducción significativa será otro anticuerpo. Por ejemplo, cuando un anticuerpo de la presente invención comprende una modificación diseñada para reducir la liberación de citoquinas, el de comparación será el anticuerpo equivalente, pero sin dicha modificación. En otra forma de realización, cuando el anticuerpo tenga una modificación de la región Fc destinada a reducir la liberación de citoquinas o no tenga región Fc, la comparación realizada será con el anticuerpo equivalente que carezca de dicha modificación o que tenga región Fc.

En otra forma de realización, la comparación para la no liberación significativa de citoquinas se realizará in vivo. Por ejemplo, cuando un anticuerpo de la presente invención se administra a un sujeto, mostrará cualquiera de los niveles de liberación de citoquinas analizados anteriormente en comparación con los de las comparaciones analizadas anteriormente. En otra forma de realización, no inducir significativamente la liberación de citoquinas puede ser en

términos del nivel de citoquina o citoquinas en comparación con antes de la administración de un anticuerpo de la presente invención. Puede ser, por ejemplo, que el nivel de una citoquina no aumente más de diez veces, cinco veces o menos después de la administración de un anticuerpo de la presente invención. La medición se puede realizar, por ejemplo, inmediatamente antes o al mismo tiempo que la administración del anticuerpo y, por ejemplo, un día, una semana o dos semanas o más después de la administración. En una forma de realización, la medición se realiza entre un día a una semana después de la administración. En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención no induce significativamente la liberación de citoquinas en el sentido de que el sujeto tratado no experimenta efectos adversos asociados con la liberación no deseada de citoquinas, por ejemplo, el sujeto no experimenta fiebre, presión arterial baja, o latidos irregulares o rápidos del corazón.

Ensayos funcionales

En una forma de realización, se puede emplear un ensayo funcional para determinar si un anticuerpo de la presente invención tiene una propiedad particular, por ejemplo, cualquiera de las mencionadas en la presente. Por lo tanto, se pueden usar ensayos funcionales para evaluar un anticuerpo de la presente invención. Un "ensayo funcional", como se usa en la presente, es un ensayo que se puede usar para determinar una o más propiedades o actividades deseadas del anticuerpo o moléculas de la presente invención.

En una forma de realización particularmente preferida, un ensayo funcional mide la capacidad de unirse a CD45. En una forma de realización preferida, se puede medir la capacidad de unirse a CD45 humano. En otra forma de

realización, se puede medir la capacidad de unión a CD45 de cynomolgus. En una forma de realización preferida, se puede medir la capacidad de unirse tanto a CD45 humano como a CD45 de mono cynomolgus. Dicha unión se puede medir, por ejemplo, en la proteína CD45. Alternativamente, se puede medir con respecto al CD45 expresado en la superficie de las células diana que expresan CD45. Las técnicas de medición preferidas incluyen las descritas en los Ejemplos de la presente solicitud, tal como SPR o citometría de flujo. Otros enfoques preferidos que se pueden emplear incluyen los descritos en la presente con respecto al bloqueo cruzado, pero sin un anticuerpo de bloqueo cruzado. Dichos ensayos se pueden referir a la unión de un anticuerpo monovalente monoespecífico. Alternativamente, se pueden referir a cualquiera de los formatos generales de anticuerpos y anticuerpos específicos descritos en la presente.

Otros ensayos funcionales adecuados pueden ser ensayos de unión, ensayos de muerte celular (tal como apoptosis), ensayos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), ensayos de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), ensayos de inhibición del crecimiento o proliferación celular (efecto citostático), ensayos de destrucción celular (efecto citotóxico), ensayos de señalización celular, ensayos de producción de citoquinas, producción de anticuerpos y cambio de isotipo, y ensayos de diferenciación celular. En una forma de realización, un ensayo puede medir el grado de reducción celular, por ejemplo para un tipo celular específico, mediante el empleo de un anticuerpo de la presente invención. En una forma de realización preferida, un ensayo puede medir la capacidad de un anticuerpo de la invención para inducir la muerte celular en células diana que expresan CD45. En otra forma de realización preferida, un ensayo funcional puede medir la capacidad de un anticuerpo de la presente invención para inducir la liberación de

citoquinas. En una forma de realización preferida, se puede usar un ensayo funcional para determinar si un anticuerpo de la presente invención se puede usar para destruir células pero no inducir significativamente citoquinas.

Los ensayos funcionales preferidos incluyen los establecidos en los Ejemplos. Por ejemplo, se pueden emplear ensayos de destrucción de células PBMC descritos en los Ejemplos. Se puede emplear un ensayo de destrucción de células Jurkat como el descrito en los Ejemplos de la presente solicitud. En una forma de realización preferida, las células diana son células humanas que expresan CD45. En otra forma de realización, las células diana son células de mono cynomolgus que expresan CD45.

Los ensayos funcionales se pueden repetir tantas veces como sea necesario para aumentar la fiabilidad de los resultados. Se pueden emplear diversas pruebas estadísticas conocidas por el experto para identificar resultados estadísticamente significativos e identificar así anticuerpos con funciones biológicas. En una forma de realización, se prueban múltiples anticuerpos en paralelo o esencialmente de forma simultánea. Simultáneamente como se emplea en la presente, se refiere a cuando las muestras/moléculas/complejos se analizan en el mismo análisis, por ejemplo en la misma "corrida". En una forma de realización, simultáneamente se refiere al análisis concomitante donde la señal de salida es analizada por el instrumento esencialmente al mismo tiempo. Esta señal puede requerir deconvolución para interpretar los resultados obtenidos. Ventajosamente, el análisis de múltiples complejos proteicos biparatópicos permite un análisis más eficiente de un gran número de anticuerpos y la identificación de nuevas e interesantes relaciones. Claramente, diferentes regiones variables a los antígenos

diana de CD45 interesantes pueden dar acceso a matices sutiles en la función biológica.

En una forma de realización, cuando un anticuerpo de la presente invención comprende más de una especificidad para CD45, se puede usar un ensayo funcional para comparar las propiedades de ese anticuerpo con, por ejemplo, un anticuerpo que tenga la misma valencia pero solo una de las especificidades de un anticuerpo de la presente invención. En una forma de realización, tales ensayos se pueden usar para mostrar que un anticuerpo de la presente invención con al menos dos especificidades diferentes para CD45 es superior al anticuerpo de comparación. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, la eficacia de anticuerpos de la presente invención que comprenden al menos dos especificidades diferentes para CD45, en particular tales anticuerpos de acuerdo con la presente invención, se puede comparar con anticuerpos "de comparación" individuales, en particular anticuerpos "de comparación", que comprenden solo una de las especificidades contra CD45 de un anticuerpo de la presente invención. Por ejemplo, cuando el ensayo se realiza para estudiar la reticulación, o el efecto de la reticulación, de CD45, se puede emplear como de comparación un anticuerpo que tenga la misma valencia, pero solo una especificidad. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención se puede compararse con un anticuerpo que comprenda el mismo uno de los parátomos del anticuerpo de la invención en todos los sitios de unión a antígeno del anticuerpo. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención se puede comparar con uno de la misma valencia y formato que el anticuerpo de la invención, pero en el que el mismo uno de los parátomos del anticuerpo de la invención está presente en todos los sitios de unión al antígeno. En una forma de realización, un anticuerpo bivalente que comprende los dos parátomos diferentes específicos para

diferentes epítomos de CD45 se puede comparar con cada uno de los dos posibles anticuerpos bivalentes que comprenden solo uno de esos parátomos. En una forma de realización, tales comparaciones se llevan a cabo con un anticuerpo de comparación para cada especificidad diferente, en particular para cada parátomo diferente, del anticuerpo de la invención específico para CD45. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención mostrará mejores resultados que frente a uno de dichos anticuerpos de comparación. En otra forma de realización, mostrará mejores resultados que todos los anticuerpos de comparación para cada especificidad, en particular parátomo, del anticuerpo específico para CD45.

En otra forma de realización en la que los anticuerpos de la presente invención comprenden al menos dos especificidades diferentes para CD45, los anticuerpos monoespecíficos se evalúan primero y los candidatos elegidos se utilizan después en la generación de un anticuerpo de la invención con al menos dos especificidades diferentes contra CD45. En una forma de realización, se prueban múltiples anticuerpos, mediante el uso de un multiplex como se definió anteriormente y la sujeción de los mismos a uno o más ensayos funcionales.

El término "función biológica", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una actividad que es natural o el propósito de la entidad biológica que se está probando, por ejemplo, una actividad natural de una célula, proteína o similar. Idealmente, la presencia de la función se puede analizar mediante un ensayo funcional in vitro, incluidos los ensayos que utilizan células de mamífero vivas. La función natural en la presente empleada incluye la función aberrante, tal como las funciones asociadas a los cánceres.

En una forma de realización, un anticuerpo de la invención podrá reticular CD45 en mayor medida que un anticuerpo de comparación, en particular que un anticuerpo

de comparación, como los discutidos anteriormente. Por ejemplo, se puede estudiar la capacidad de un anticuerpo de la invención para formar multímeros CD45 de anticuerpo:CD45 ECD cuando se mezclan los dos, por ejemplo en cantidades iguales. Un multímero puede ser una estructura con al menos dos unidades anticuerpo:CD45 ECD. Una técnica adecuada es la fotometría de masas, con el anticuerpo, mezclado con una concentración igual de CD45 ECD, como la de SEQ ID N°: 128 y fotometría de masas realizada en la muestra de ensayo. se pueden realizar controles con el anticuerpo y CD45 ECD solos. Un anticuerpo de la presente invención puede originar más multímeros que un anticuerpo de comparación. Un anticuerpo de la presente invención puede originar a una mayor cantidad de multímeros con dos, tres, cuatro o más unidades anticuerpo:CD45 ECD que el comparación. Se puede realizar para todos los comparadores posibles para cada una de las especificidades (en particular parátomos) específicas para CD45. Otra técnica adecuada para dicha comparación es la ultracentrifugación analítica (AUC). Una vez más, la comparación realizada también puede ser entre una mezcla de anticuerpos comparada con cada tipo individual de anticuerpos de la mezcla por separado.

En otra forma de realización, la comparación se puede hacer en términos de la capacidad de un anticuerpo de la presente invención para inducir la muerte celular. Por ejemplo, un anticuerpo de la invención puede inducir a más células diana que expresan CD45 a someterse a destrucción celular que un comparador, por ejemplo que un anticuerpo de comparación. Puede inducir una mayor cantidad de muerte celular cuando se mide utilizando células T. Por ejemplo, se pueden utilizar células T aisladas de PBMC. Cualquier anticuerpo de la invención puede inducir un mayor nivel de destrucción celular en células T CD4+. Puede hacerlo en células T CD8+. Puede hacerlo en células T de memoria CD4+.

Puede hacerlo en células T CD4+ naïve. En otra forma de realización, el recuento total de células en sangre entera se puede medir después de la incubación con un anticuerpo de la invención y compararse con los resultados observados para un comparador. En una forma de realización, se puede medir un recuento total de células y comparar para el anticuerpo de la invención con un anticuerpo de control.

En una forma de realización, se pueden emplearse ensayos in vivo, como modelos animales, incluidos modelos de tumores de ratón, modelos de enfermedades autoinmunes, modelos de roedores o primates infectados por virus o bacterias, y similares, para probar anticuerpos de la presente invención. En otra forma de realización, se puede medir el grado de reducción de un tipo de célula particular, por ejemplo in vivo. En una forma de realización, un anticuerpo de la invención producirá un mayor nivel de reducción que un comparador en un modelo animal de un trastorno y, en una forma de realización preferida, en un modelo animal de cáncer.

En una forma de realización, una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención tiene una función novedosa o sinérgica. El término "función sinérgica", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la actividad biológica que no se observa o que es superior a la observada cuando se emplean comparadores en su lugar. Por lo tanto, "sinérgico" incluye una función biológica novedosa. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención que comprende al menos dos especificidades para CD45 es sinérgico en el sentido de que es más eficaz que un anticuerpo que comprende cualquiera de las especificidades contra CD45 individualmente, tal como los comparadores analizados anteriormente. En una forma de realización preferida, dicha sinergia se muestra en relación con la reticulación de CD45. En una forma de realización, una mezcla

de anticuerpos muestra sinergia en comparación con cualquiera de los anticuerpos individuales que componen la mezcla por sí solos.

En una forma de realización, la función biológica novedosa, tal como se emplea en la presente, se refiere a la función que no es evidente o está ausente hasta que se juntan las dos o más entidades sinérgicas [proteína A y proteína B] o una función no identificada previamente. Mayor, tal como se emplea en la presente, se refiere a un aumento de la actividad, incluido un aumento desde cero, es decir, cierta actividad en el anticuerpo o las moléculas cuando el comparador no tiene actividad en el ensayo funcional pertinente, también denominado en la presente nueva actividad o función biológica novedosa. Mayor, tal como se emplea en la presente, también incluye una función mayor que aditiva en el anticuerpo en un ensayo funcional relevante en comparación con los parátomos individuales, por ejemplo, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300% o más de aumento en una actividad relevante.

En una forma de realización, la función sinérgica novedosa es una mayor actividad inhibidora.

En una forma de realización particularmente preferida de la invención, la sinergia está en relación con la reducción celular de un tipo de célula diana que expresa CD45. En una forma de realización, la sinergia está relacionada con la destrucción celular.

Los dominios de unión adecuados para su uso en la presente invención también se pueden identificar mediante el análisis de uno o más pares de dominios de unión en un ensayo funcional. Por ejemplo, los anticuerpos, por ejemplo un anticuerpo, que comprende al menos un sitio de unión específico para el antígeno CD45 se pueden probar en uno o más ensayos funcionales.

En una forma de realización, se puede ensayar la capacidad de un anticuerpo para destruir líneas celulares cancerosas que expresan CD45. Los métodos para evaluar la capacidad de un anticuerpo para provocar la destrucción de tales líneas celulares empleados en los Ejemplos de la presente solicitud se pueden usar para estudiar la capacidad de un anticuerpo dado para destruir células. En una forma de realización, una variante de anticuerpo de la presente invención tendrá la misma o mayor capacidad para destruir células cancerosas en dichos ensayos que uno de los anticuerpos específicos expuestos en la presente. En una forma de realización, tendrán al menos el 50%, 75%, 80%, 90%, 100% o más de la actividad de uno de los anticuerpos específicos establecidos en la presente para destruir una de las líneas celulares cancerosas mencionadas anteriormente en dicho ensayo. En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención destruirá al menos el 25%, 40%, 50%, 60% o 75% de las células cancerosas en dicho ensayo. En otra forma de realización, un anticuerpo de la presente invención destruirá el 100% de las células cancerosas en dicho ensayo.

En una forma de realización, un anticuerpo de la presente invención tendrá actividades similares a aquellos anticuerpos para los que se muestran resultados en las Figuras 17 y 18.

Por ejemplo, en una forma de realización, un anticuerpo biparatópico de la invención tendrá un valor EC50 en un ensayo de reducción de linfocitos T humanos de 0,01 a 0,30 nM. En una forma de realización, el valor EC50 será de 0,02 a 0,200 nM. En una forma de realización, tendrá un valor Emax% de 50 a 100%. En una forma de realización preferida, tendrá un valor Emax% de 60 a 90%. En una forma de realización, un biparatópico puede tener un valor KD para CD45 humano medido por SPR Biocore de 5 a 20 nM, tal como 5 a 15nM. En una forma de realización, un biparatópico puede

tener un valor KD para CD45 de mono cynomolgus medido por SPR Biocore de 0,10 a 0,50 nM. En una forma de realización, un biparatópico de la presente invención puede tener un valor EC50 para la unión a CD45 humano en células de 0,5 nM a 10 nM, tal como 0,5 a 5 nM. En una forma de realización, un biparatópico de la presente invención puede tener un valor EC50 para unirse a CD45 de mono cynomolgus en células de 0,5 nM a 10 nM, tal como 1 a 10 nM. En una forma de realización preferida, las técnicas usadas en los Ejemplos se utilizan para realizar tales mediciones. En una forma de realización aún más preferida, se utilizan las técnicas empleadas para generar los resultados mostrados en la Figura 18.

Condiciones patológicas, uso médico, y reducción celular

La presente invención proporciona un anticuerpo de la invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal. Un anticuerpo de la presente invención se puede emplear en cualquier contexto en el que dirigirse a CD45 pueda ser beneficioso desde el punto de vista terapéutico, en particular cuando la destrucción de estas células pueda ser beneficioso desde el punto de vista terapéutico. Un anticuerpo de la presente invención también se puede utilizar en el diagnóstico o detección de CD45. La presente invención proporciona además una composición farmacéutica de la invención para dicho uso. La presente invención también proporciona moléculas de ácido nucleico y vectores de la presente invención para tales usos.

Por lo tanto, los anticuerpos de la presente invención se pueden emplear terapéuticamente. En una forma de realización, en lugar de administrar un anticuerpo de la presente invención, se pueden administrar moléculas de ácido nucleico o vectores de la presente invención para provocar la expresión del anticuerpo dentro de la célula diana. En

otra forma de realización, se prefiere administrar una composición farmacéutica de la presente invención. Aunque los anticuerpos se describen a continuación como la terapia preferida, la composición farmacéutica, la molécula de ácido nucleico y el vector de la presente invención también se pueden emplear en cualquiera de las formas de realización descritas. En una forma de realización preferida, sin embargo, los anticuerpos o una composición farmacéutica que los comprenda es el tratamiento preferido.

En una forma de realización particularmente preferida, la presente invención se puede emplear para reducir las células diana que expresan CD45. En una forma de realización particularmente preferida, la presente invención se utiliza para reducir un tipo de célula causante de enfermedad que expresa CD45. En particular, la presente invención se puede emplear para reducir las células diana que expresan CD45 en la superficie de las células. En una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo empleado es uno que tiene al menos dos especificidades diferentes para CD45, es decir, es biparatópico para CD45.

En una forma de realización preferida en la que se emplea un anticuerpo de la presente invención, la inducción de la muerte celular en la célula diana a través del anticuerpo de la presente invención puede significar que es innecesario que un anticuerpo de la invención muestre una o más funciones efectoras de la región Fc que un anticuerpo puede mostrar normalmente. En una forma de realización particularmente preferida, un anticuerpo de la invención es por tanto capaz de inducir la muerte celular en una célula diana, pero no tiene una región Fc activa. En una forma de realización particularmente preferida, el anticuerpo induce la muerte celular, pero no induce una liberación significativa de citoquinas.

En una forma de realización particularmente preferida, la reducción de células mediante la presente invención es seguida por la transferencia de células o un tejido al sujeto. En otra forma de realización particularmente preferida, las células o tejidos transferidos reemplazan a los que se reducidos mediante la invención. El tratamiento tal como se analiza en la presente incluye, por lo tanto, en lugar de dirigirse al mecanismo real del trastorno, el reemplazo total o parcial de un tipo de célula implicada en el trastorno o una cuya destrucción, en particular el reemplazo, puede tener simplemente un beneficio terapéutico. En una forma de realización, la invención por lo tanto proporciona un método de reducción de células que comprende emplear la invención. En otra forma de realización, un método de la invención puede comprender tanto la reducción de células como la posterior transferencia de células o tejido. La reducción celular se puede utilizar en diversos contextos terapéuticos para eliminar destruir células diana.

En un caso preferido, un anticuerpo de la invención se utiliza para destruir células inmunitarias. Como se usa en la presente, el término "célula inmunitaria" se considera que incluye, pero no se limita a, una célula que es de origen hematopoyético y que desempeña un papel en la respuesta inmunitaria. En una forma de realización, la invención se emplea para reducir las células T en un sujeto. En una forma de realización, la invención se emplea para reducir las células B en un sujeto. En otra forma de realización, la invención se emplea para reducir ambas. En otra forma de realización, la invención se utiliza para reducir las células T, pero no los macrófagos. En otra forma de realización, la invención se utiliza para reducir las células B, pero no los macrófagos. En otra forma de realización, la invención se utiliza para reducir las células B y T, pero no produce la reducción de los macrófagos. En una forma de realización, la

presente invención se utiliza para reducir las células madre hematopoyéticas (HSC). En otra forma de realización, la invención se emplea para reducir las células madre hematopoyéticas. En una forma de realización preferida, las HSC se reducen mediante la invención en un sujeto antes de la transferencia de las HSC para repoblar el sistema inmunitario del sujeto. En otra forma de realización, la invención reduce un tipo particular de células, pero no reduce las células madre hemopoyéticas. En otra forma de realización, la invención se utiliza para destruir los tipos de células mencionados anteriormente. Por lo tanto, en cualquiera de las formas de realización mencionadas en la presente para la reducción celular, la invención se puede emplear para destruir las células indicadas.

En una forma de realización, el sujeto tratado mediante la invención padece una enfermedad autoinmune, una enfermedad sanguínea, un trastorno metabólico, cáncer o una inmunodeficiencia. La capacidad de tratar afecciones mediante la reducción primero y el reemplazo posterior de las células significa que los anticuerpos de la invención son particularmente útiles en el tratamiento de cánceres. En una forma de realización particularmente preferida, el trastorno a tratar es por tanto un cáncer. En una forma de realización, la invención se emplea para eliminar células cancerosas, por ejemplo células cancerosas procedentes de células del sistema inmunitario. En una forma de realización preferida, la invención proporciona un método de tratamiento de un cáncer que comprende la administración de la invención se emplea para reducir las células cancerosas que expresan CD45. El método puede comprender además el trasplante de células al sujeto. En una forma de realización, las células transferidas reemplazan a las células reducidas, En una forma de realización, las células transferidas son células madre hematopoyéticas.

En una forma de realización particularmente preferida, el trastorno a tratar es un cáncer sanguíneo. En una forma de realización preferida, el cáncer afecta la médula ósea y, en particular, a las células del sistema hematopoyético.

En una forma de realización preferida, el cáncer puede ser una leucemia. En una forma de realización, el cáncer puede ser una leucemia de células T. En una forma de realización, el cáncer puede ser una leucemia de células B.

En una forma de realización de la invención, el cáncer sanguíneo a tratar puede ser un linfoma.

En una forma de realización, el cáncer de células sanguíneas a tratar es un mieloma.

En otra forma de realización, el sujeto a tratar padece un trastorno autoinmune.

En una forma de realización, la afección a tratar es una que se sabe que implica una expresión anormal de CD45. En una forma de realización particularmente preferida, el tratamiento reduce un tipo de célula que expresa CD45 y que desempeña un papel en un trastorno del sujeto.

En una forma de realización, la invención se utiliza para reducir las células antes de un trasplante celular, por lo que un método de la invención puede incluir, en algunas formas de realización, una etapa de reducción que emplea una terapéutica, en particular anticuerpo, de la presente invención seguido de una etapa de transferencia de células al sujeto, por ejemplo para ayudar a reemplazar las células reducidas. En una forma de realización, dicha transferencia puede ser de células alogénicas. En otra forma de realización, dicha transferencia puede ser de células autólogas. En una forma de realización, las células transferidas pueden ser células que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas formas de realización, el sujeto necesita una terapia con células T receptoras de

antígenos quiméricos (CART). Por ejemplo, dicha terapia puede formar parte de un método de la presente invención.

En otra forma de realización preferida, la invención proporciona un método para promover el injerto de una población celular en un sujeto, donde el método comprende además emplear un anticuerpo de la invención para reducir las células antes del injerto de una población celular. Por lo tanto, la presente invención proporciona un método para promover el injerto de células transferidas que comprende reducir las células que expresan CD45 en un sujeto mediante la administración de un anticuerpo de la invención y luego transferir las células de interés. En una forma de realización, la presente invención proporciona un método para promover el injerto de células madre y, en particular, de células madre hematopoyéticas. En una forma de realización, las células madre hematopoyéticas se administran a un sujeto defectuoso o deficiente en uno o más tipos de células del linaje hematopoyético con el fin de reconstituir, o parcialmente reconstituir, la población defectuosa o deficiente de células in vivo. En una forma de realización, la invención se utiliza para tratar una deficiencia de células madre, por ejemplo, cuando la invención se utiliza para reducir las células diana y reemplazarlas con células trasplantadas, donde las células trasplantadas abordan la deficiencia de células madre. En una forma de realización, las células reintroducidas se han modificadas genéticamente. En una forma de realización, las células del sujeto se han extraído y modificado genéticamente y luego se devolvieron al sujeto después de que la invención haya sido utilizada para destruir las células diana, por ejemplo las células no modificadas de ese tipo todavía presentes en el sujeto. En una forma de realización preferida, las células transferidas que han sido modificadas genéticamente son células madre hematopoyéticas.

En una forma de realización preferida, las células reducidas y las células transferidas son, o comprenden, el mismo tipo celular. En una forma de realización preferida, las células reducidas son células hematopoyéticas y, en particular, células madre hematopoyéticas. En una forma de realización, la presente invención se emplea para reducir las células antes de un trasplante de médula ósea. En otra forma de realización, la presente invención se emplea en lugar de la irradiación para reducir las células. En otra forma de realización, se emplea además de la irradiación para reducir las células.

En otra forma de realización, la presente invención proporciona un método para ayudar a reducir las posibilidades de rechazo de las células trasplantadas, el método comprende la administración de un agente terapéutico de la invención para reducir las células antes de la transferencia de las células. En otra forma de realización, la invención se puede emplear para promover la aceptación de células inmunitarias trasplantadas en un sujeto mediante la reducción de las células diana que expresan CD45 antes de la transferencia de las células inmunitarias. Las células diana pueden ser cualquiera de las descritas en la presente. En una forma de realización, las células trasplantadas o transferidas a un sujeto son células madre.

Cualquiera de las formas analizadas en la presente para eliminar las células que expresan CD45 se puede emplear en la reducción o destrucción celular. Sin embargo, en una forma de realización particularmente preferida de la invención, la presente invención se puede utilizar para provocar la muerte celular de las células que expresan CD45 y, por lo tanto, la reducción de dichas células.

En una forma de realización, como parte de la transferencia celular, el sujeto puede recibir médula ósea para transferir células. En otra forma de realización, el

sujeto puede haber recibido sangre de cordón, o células aisladas de sangre de cordón, como forma de transferir células. En otra forma de realización, las células trasplantadas pueden proceder de células madre diferenciadas, por ejemplo cuando las células madre se han diferenciado in vitro y después se han trasplantado.

En una forma de realización en la que los anticuerpos de la invención se utilizan para reducir o destruir células, también se puede utilizar otro agente que reduzca o destruya las células. En una forma de realización preferida, el anticuerpo de la invención es el único agente reductor celular administrado al sujeto. En una forma de realización, el nivel de destrucción de la célula diana es suficiente para ser eficaz, por ejemplo, aproximadamente al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 99% de las células diana. Por ejemplo, en una forma de realización, se reducen al menos 50% de las células diana. En otra forma de realización, se reducen al menos 75% de las células diana. En otra forma de realización, se reducen al menos aproximadamente 90% de las células diana. En otra forma de realización, se reducen al menos aproximadamente 95% de las células diana.

Como se analizó anteriormente, en una forma de realización particularmente preferida, los anticuerpos de la presente invención se pueden utilizar para provocar la muerte celular de una célula que expresa CD45. Se puede utilizar cualquier método adecuado para evaluar la viabilidad celular y, por tanto, la destrucción celular.

En otra forma de realización, la presente invención se puede utilizar con respecto a la enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), en particular con respecto al tratamiento de una población celular, tejido u órgano con un anticuerpo para reducir células.

En otra forma de realización, la presente invención proporciona un método de tratamiento que comprende primero realizar dicho tratamiento ex vivo y luego realizar el trasplante. En otra forma de realización, la presente invención se utiliza para reducir o destruir células en un sujeto antes del trasplante, de modo que haya menos células huésped capaces de atacar el material trasplantado como forma de reducir la posibilidad de GVHD. Por lo tanto, la presente invención también proporciona un método para tratar o prevenir la GVHD que comprende administrar un anticuerpo de la presente invención para reducir células en una población de células, tejido u órgano antes de trasplantar la población de células, tejido u órgano. El método puede comprender además el propio trasplante. Las células reducidas y las células, tejidos u órganos trasplantados pueden ser cualquiera de los mencionados en la presente. En una forma de realización preferida, las células trasplantadas son células madre hematopoyéticas. En una forma de realización preferida, las células reducidas son células T. En otra forma de realización preferida, la capacidad de la presente invención para tratar o prevenir la GVHD se emplea en trasplantes de corazón, pulmón, riñón o hígado.

En otra forma de realización, la invención proporciona un método de reducción y/o destrucción de células en una población de células, tejido u órgano in vitro antes de su trasplante mediante la aplicación de los anticuerpos de la invención, en lugar de tratar al receptor. Por lo tanto, la presente invención también proporciona un método de eliminación de células diana de una población de células, tejido u órgano in vitro antes del trasplante que comprende tratar la población de células, tejido u órgano antes del trasplante y luego realizar el trasplante.

En una forma de realización, la presente invención se puede utilizar para reducir las células inmunitarias en

órganos o tejidos, en particular allí donde las terapias convencionales no pueden acceder fácilmente o provocan una inflamación exagerada como parte de su mecanismo inherente. En una forma de realización, la presente invención se utiliza para reducir las células en un órgano cerrado, por ejemplo en el cerebro, médula espinal, ojos o testículos. En una forma de realización, la invención se puede emplear para reducir células CD45+ en órganos inmunitarios privilegiados. La capacidad de los anticuerpos de la invención para reducir células CD45+ sin emplear funciones mediadas por Fc puede ayudar a evitar efectos secundarios y daños no deseados. En una forma de realización, la invención se puede utilizar para reducir las células de forma inmunosilenciosa y sin necesidad de mecanismos efectores de anticuerpos. Esto puede tener la ventaja de minimizar, o al menos reducir, los daños no deseados, por ejemplo, ya que los órganos cerrados pueden contener células tisulares delicadas y a menudo no divisibles que pueden ser destruidas por leucocitos infiltrados. Cuando la invención actual se aplica directamente al órgano, por ejemplo el cerebro, la médula espinal, el ojo o los testículos, puede producir la eliminación de células CD45 positivas sin inducir más daño o inflamación al tejido o con un daño adicional reducido. En una forma de realización, las células diana en el órgano incluido se seleccionan de linfocitos, células B y células T. En una forma de realización, las células diana en el órgano cerrado son, o comprenden células T CD4+. En otra forma de realización, las células diana son, o comprenden, células T CD8+.

En otra forma de realización preferida, la afección a la que se aplica la invención se caracteriza por la infiltración de células T CD8+.

Composiciones farmacéuticas

En un aspecto se proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) un anticuerpo, una molécula o moléculas de ácido nucleico, o un vector o vectores de la presente invención; y (b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En una forma de realización especialmente preferida, comprende un anticuerpo o anticuerpos de la presente invención. En la composición se pueden incluir varios componentes diferentes, incluidos portadores, excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La composición puede, opcionalmente, comprender moléculas adicionales capaces de alterar las características de la molécula de la invención, por ejemplo, reducir, estabilizar, retrasar, modular y/o activar la función de la molécula. La composición puede presentarse en forma sólida o líquida y, entre otras cosas, en forma de polvo, comprimido, solución o aerosol.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende una molécula de la presente invención en combinación con uno o más de un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. En consecuencia, se proporciona el uso de un anticuerpo de la invención para su uso en el tratamiento de, y para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de, una afección patológica o trastorno. En una forma de realización donde el agente terapéutico de la invención se administra a un sujeto al que también se le ha administrado un segundo agente terapéutico, los dos se pueden administrar, por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o separadamente. En una forma de realización, los dos se administran en la misma composición farmacéutica. En otra forma de realización, los dos se administran en composiciones farmacéuticas separadas. En una forma de realización, la presente invención proporciona un anticuerpo de la invención para su uso en un método en el que el sujeto también se está

tratando con un segundo agente terapéutico. En otra forma de realización, la presente invención proporciona el segundo agente terapéutico para su uso en un método en el que el sujeto se está tratando con un anticuerpo de la presente invención. Las moléculas de ácido nucleico y los vectores de la presente invención también se pueden administrar en tales combinaciones.

Una composición de la presente invención se suministrará normalmente como una composición farmacéutica estéril. Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender además un adyuvante farmacéuticamente aceptable. En otra forma de realización, dicho adyuvante no está presente en una composición de la presente invención. La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende añadir y mezclar el anticuerpo de la presente invención junto con uno o más de un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un portador, solución o aditivo de formulación farmacéuticamente aceptable para mejorar las características deseadas de las composiciones de la presente invención. Los excipientes son bien conocidos en la técnica e incluyen buffers (por ejemplo, buffer citrato, buffer fosfato, buffer acetato y buffer bicarbonato), aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico, fosfolípidos, proteínas (por ejemplo, albúmina sérica), EDTA, cloruro de sodio, liposomas, manitol, sorbitol y glicerol. Las soluciones o suspensiones se pueden encapsular en liposomas o microesferas biodegradables. La formulación se proporcionará generalmente en una forma sustancialmente estéril empleando procesos de fabricación estériles.

Esto puede incluir la producción y esterilización por filtración de la solución de solvente buffer utilizada para la formulación, la suspensión aséptica del anticuerpo en la solución de solvente buffer estéril y la dispensación de la formulación en recipientes estériles mediante métodos conocidos por los expertos en la materia.

El portador farmacéuticamente aceptable no debe inducir por sí mismo la producción de anticuerpos perjudiciales para el individuo que recibe la composición y no debe ser tóxico. Los portadores adecuados pueden ser macromoléculas grandes, de metabolización lenta, tal como proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivos.

Se pueden utilizar sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales de ácidos minerales, tales como clorhidratos, bromhidratos, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos. Los portadores farmacéuticamente aceptables en las composiciones terapéuticas pueden contener además líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Dichos portadores permiten que las composiciones farmacéuticas se formulen como comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas y suspensiones, para su ingestión por el paciente.

En Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991) se ofrece un análisis exhaustivo de los portadores farmacéuticamente aceptables.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un agente terapéutico necesaria para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección diana, o para mostrar un efecto terapéutico o preventivo detectable. Para cualquier anticuerpo, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente en

ensayos de cultivo celular o en modelos animales, normalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal también se puede utilizar para determinar el rango de concentración y la vía de administración adecuados. Esta información se puede utilizar a continuación para determinar las dosis y vías de administración útiles en seres humanos.

Las composiciones se pueden administrar individualmente a un paciente o en combinación (por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o por separado) con otros agentes, fármacos u hormonas. La dosis a la que se administra la presente invención depende de la naturaleza de la afección para tratar, la extensión de la inflamación presente y de si los anticuerpos se utilizan profilácticamente o para tratar una afección existente.

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

El anticuerpo, la molécula de ácido nucleico o el vector pueden ser el único ingrediente activo de la composición farmacéutica o de diagnóstico o pueden ir acompañados de otros ingredientes activos, incluidos ingredientes anticuerpo o ingredientes no anticuerpo, como esteroides u otras moléculas de fármacos.

Las composiciones farmacéuticas comprenden adecuadamente una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de la invención. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en la presente se refiere a la cantidad de un agente terapéutico necesaria para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección diana, o para mostrar un efecto terapéutico o preventivo detectable. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" puede ser la cantidad necesaria para alcanzar el nivel deseado de

reducción celular. Para cualquier anticuerpo, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, normalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal también puede utilizarse para determinar el rango de concentración y la vía de administración adecuados. Esta información se puede utilizar a continuación para determinar las dosis y vías de administración útiles en seres humanos.

La cantidad terapéuticamente eficaz precisa para un sujeto humano dependerá de la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el sexo del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la combinación fármacos, las sensibilidades a las reacciones y la tolerancia/respuesta a la terapia. Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz será de 0,01 mg/kg a 50 mg/kg, por ejemplo de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg al día. En una forma de realización, la cantidad en una dosis dada es al menos suficiente para producir una función particular.

Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar convenientemente en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de un agente activo de la invención por dosis. Una composición farmacéutica de la presente invención se puede proporcionar en un receptáculo que proporcione medios para su administración a un sujeto. Una composición farmacéutica de la presente invención se puede proporcionar en una jeringa precargada. Por lo tanto, la presente invención proporciona una jeringa cargada de este tipo. También proporciona un autoinyector cargado con una composición farmacéutica de la presente invención.

Las composiciones se pueden administrar individualmente a un paciente o en combinación (por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o por separado) con otros agentes, fármacos u hormonas.

Los agentes empleados en la presente se refieren a una entidad que, cuando se administra, tiene un efecto fisiológico. Por fármaco se entiende una entidad química que, a una dosis terapéutica, tiene un efecto fisiológico adecuado.

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

En una forma de realización, el anticuerpo de la presente invención se puede utilizar para alterar funcionalmente la actividad del antígeno o antígenos de interés y, en particular, para modular CD45. Por ejemplo, la invención puede neutralizar, antagonizar o agonizar la actividad de dicho antígeno o antígenos, directa o indirectamente.

La presente invención también se extiende a un kit, que comprende un anticuerpo de la invención. En una forma de realización, se proporciona un kit que comprende cualquiera de los anticuerpos de la invención, opcionalmente con instrucciones de administración.

En otra forma de realización, el kit comprende además uno o más reactivos para realizar uno o más ensayos funcionales.

En una forma de realización, se proporcionan moléculas de la presente invención que incluyen un anticuerpo de la invención para su uso como reactivo de laboratorio

Aspectos adicionales

En un aspecto adicional, se proporciona una secuencia o secuencias de nucleótidos, por ejemplo una secuencia o secuencias de ADN que codifican una molécula de anticuerpo

de la presente invención como se describe en la presente. En una forma de realización, la secuencia de nucleótidos está presente colectivamente en más de un polinucleótido pero colectivamente juntos son capaces de codificar un anticuerpo de la presente invención.

La presente invención también se extiende a un vector que comprende una secuencia de nucleótidos como la definida anteriormente. El término "vector", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un ejemplo de vector es un "plásmido", que es un bucle de ADN circular de doble cadena en el que se pueden ligar segmentos adicionales de ADN. Otro tipo de vector es un vector viral, en el que se pueden ligarse segmentos adicionales de ADN al genoma viral. Ciertos vectores son capaces de replicarse de forma autónoma en una célula huésped en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen bacteriano de replicación y vectores episómicos de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores de mamíferos no episómicos) se pueden integrar en el genoma de una célula huésped, donde se replican posteriormente junto con el genoma huésped. En la presente memoria descriptiva, los términos "plásmido" y "vector" se pueden utilizar indistintamente, ya que un plásmido es la forma de vector más comúnmente utilizada. Los métodos generales por los que se pueden construir los vectores, los métodos de transfección y los métodos de cultivo son bien conocidos por los expertos en la materia. A este respecto, se hace referencia a "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, Nueva York y al Manual Maniatis producido por Cold Spring Harbor Publishing.

El término vector de la presente también incluye, por ejemplo, partículas que comprenden el vector, por ejemplo

partículas LNP (nanopartículas lipídicas) y en particular partículas LNP-ARNm. También incluye partículas virales utilizadas para transferir un vector de la presente invención.

El término "marcador seleccionable", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una proteína cuya expresión permite identificar células que han sido transformadas o transfectadas con un vector que contiene el gen marcador. En la técnica se conoce una amplia variedad de marcadores de selección. Por ejemplo, normalmente el gen marcador seleccionable confiere resistencia a fármacos, tal como G418, higromicina o metotrexato, en una célula huésped en la que se ha introducido el vector. El marcador seleccionable también puede ser un marcador identificable visualmente tal como, por ejemplo, un marcador fluorescente. Ejemplos de marcadores fluorescentes incluyen rodamina, FITC, TRITC, Alexa Fluors y varios conjugados de los mismos.

En una forma de realización, la invención proporciona un vector que codifica un anticuerpo de la invención. En otra forma de realización, la invención proporciona vectores que codifican colectivamente un anticuerpo de la invención.

También se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vectores de clonación o expresión que comprenden una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Para la expresión de las secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención se puede utilizar cualquier sistema de célula huésped/vector adecuado. Se pueden usar sistemas bacterianos, por ejemplo *E. coli*, y otros sistemas microbianos, o también se pueden usar sistemas de expresión de células huésped eucariotas, por ejemplo de mamíferos. Las células huésped de mamífero adecuadas incluyen células CHO, mieloma o hibridoma. También se proporciona una célula

huésped que comprende una molécula de ácido nucleico o vector de la presente invención.

La presente invención también proporciona un proceso para la producción de una molécula de acuerdo con la presente invención o un componente de la misma que comprende cultivar una célula huésped que contiene un vector de la presente invención en condiciones adecuadas para llevar a la expresión de proteína a partir de ADN que codifica la molécula de la presente invención, y aislar la molécula.

Un método para producir un anticuerpo que comprende un anclaje heterodimérico puede comprender además mezclar las dos partes del anticuerpo y permitir que se asocien los compañeros de unión del anclaje heterodimérico. El método puede comprender además la purificación, por ejemplo para eliminar cualquier especie distinta de los heterodímeros deseados.

Los anticuerpos de la presente invención se pueden utilizar en kits de diagnóstico/detección. En una forma de realización, los anticuerpos de la presente invención se fijan sobre una superficie sólida. La superficie sólida puede ser, por ejemplo, un chip o una placa ELISA.

Los anticuerpos de la presente invención pueden estar, por ejemplo, conjugados con un marcador fluorescente que facilite la detección de complejos anticuerpo-antígeno unidos. Se pueden usar para microscopía de inmunofluorescencia. Alternativamente, el anticuerpo también se puede utilizar para transferencia western o ELISA.

En una forma de realización, se proporciona un proceso para purificar un anticuerpo de la presente invención o un componente del mismo. En una forma de realización, se proporciona un proceso para purificar un anticuerpo de acuerdo con la presente invención o un componente de la misma que comprende las etapas: realizar cromatografía de intercambio aniónico en modo de no unión de tal manera que

las impurezas se retienen en la columna y el anticuerpo se mantiene en la fracción no unida. La etapa se puede realizar, por ejemplo, a un pH de aproximadamente 6-8. El proceso puede comprender además una etapa inicial de captura que emplea cromatografía de intercambio catiónico, realizada por ejemplo a un pH de aproximadamente 4 a 5. El proceso puede comprender además otras etapas cromatográficas para asegurar que las impurezas relacionadas con el producto y el proceso se eliminan adecuadamente de la corriente de producto. El proceso de purificación también puede incluir una o más etapas de ultrafiltración, tal como una etapa de concentración y diafiltración.

El término "forma purificada", tal como se utiliza más adelante, hace referencia a una pureza de al menos el 90%, como 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% p/p o más puro.

En el contexto de esta memoria descriptiva, "que comprende" se debe interpretare como "que incluye". Los aspectos de la invención que comprenden ciertos elementos también pretenden extenderse a formas de realización alternativas "que consisten" o "consisten esencialmente" en los elementos relevantes. Por ejemplo, una CDR que se describe como "que comprende" una secuencia de un SEQ ID NO especificado puede "consistir" en la secuencia, es decir, contener solo esa secuencia y ninguna otra secuencia.

Las formas de realización mencionadas positivamente se pueden emplear en la presente como base para una exención de responsabilidad.

Cuando en la presente se hace referencia al singular, también se incluye el plural a menos que se indique lo contrario o sea evidente. En particular, las formas singulares "un", "una", "el/la" y similares incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Todas las referencias mencionadas en la presente se incorporan específicamente por referencia.

Los subtítulos se emplean para ayudar a estructurar la memoria descriptiva y no pretenden utilizarse para construir el significado de los términos técnicos.

Las secuencias de la invención se proporcionan a continuación.

En el contexto de esta memoria descriptiva, "que comprende" se debe interpretar como "que incluye".

Los aspectos de la invención que comprenden ciertos elementos también pretenden extenderse a formas de realización alternativas "que consisten" o "consisten esencialmente" en los elementos relevantes.

Las formas de realización mencionadas positivamente también se pueden emplearse en la presente como base para un descargo de responsabilidad.

Todas las referencias mencionadas en la presente se incorporan específicamente por referencia en su totalidad. Además, se incorporan en el contexto específico en el que se citan.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Evaluación de la unión del anticuerpo a CD45 humano por medio de Biacore

En el presente Ejemplo se expone la metodología utilizada en otros Ejemplos para medir la afinidad de unión mediante Biacore.

La cinética de unión de injertos de IgG humanizados o moléculas de IgG biparatópicas a CD45 humano se evaluó mediante resonancia de plasmón superficial en un aparato Biacore T200 u 8K+ (Cytiva).

Se inmovilizó un F(ab')₂ específico de IgG antihumana de cabra (Jackson ImmunoResearch) en un chip sensor CM5 (Cytiva) mediante química de acoplamiento de aminas a un

nivel típico de 5000 a 7000RU. Cada ciclo de análisis consistió en la captura de las moléculas de IgG anti-CD45 en la superficie anti-Fc seguida de la inyección de CD45 humano (preparado internamente) a 25 °C y a un caudal de flujo 30 o 50 µl/min. Al final de cada ciclo se regeneró la superficie a un caudal de flujo 10 µL/min utilizando una inyección de 60s de HCl 50mM seguida de una inyección de 30s de NaOH 5mM y una inyección final de 60s de HCl 50mM. Se inyectó CD45 humano en buffer de corrida HBS-EP+ (Cytiva) sobre la muestra capturada y una celda de flujo de referencia a concentraciones de 800 nM a 3,3nM (diluciones seriadas 5 x 3 veces) o de 800 a 3,13 nM (diluciones seriadas 4 x 4 veces) en buffer de funcionamiento HBS-EP+ (Cytiva. La respuesta de unión de la celda de flujo de referencia se restó de la de la celda de flujo activa, y se incluyeron inyecciones de blanco de buffer para restar el ruido y la deriva del instrumento.

Los parámetros cinéticos se determinaron mediante un modelo cinético de unión 1:1 utilizando el software Biacore T200 Evaluation (versión 3.0) o Biacore Insight Evaluation (versión 4.0.8.20368).

Ejemplo 2: Generación y caracterización de anticuerpos anti-CD45

Introducción:

El presente Ejemplo describe la generación y caracterización inicial de anticuerpos específicos para CD45.

Inmunizaciones:

Se inmunizó a conejos con una mezcla de células de fibroblastos de conejo que expresan CD45RO humano, una forma truncada de CD45 (SEQ ID 136), o el equivalente CD45RO de mono cynomolgus (SEQ ID NO: 137). Después de 3 a 5 inyecciones, se sacrificó a los animales y se recogieron

PBMC, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos. Se controló la unión del suero a la proteína CD45RO humana y de mono cynomolgus mediante ELISA.

Descubrimiento de anticuerpo:

Los cultivos de células B se prepararon utilizando un método similar al descrito por Zubler R. H., Erard F., Lees R. K., et al. Mutant EL-4 Thymoma Cells Polyclonally Activate Murine and Human B Cells via Direct Cell Interaction. J. Immunol. 1985, 134, (6), 3662-3668. Brevemente, las células B derivadas del bazo o PBMC de conejos inmunizados se cultivaron a una densidad de aproximadamente 2000-5000 células por pocillo en placas de cultivo tisular de 96 pocillos con código de barras con 200 ul/pocillo de medio RPMI 1640 (Gibco BRL) suplementado con FCS 10% (PAA laboratories ltd), HEPES 2% (Sigma Aldrich), L-Glutamina 1% (Gibco BRL), solución de penicilina/estreptomicina 1% (Gibco BRL), β -mercaptoetanol 0.1% (Gibco BRL), sobrenadante de cultivo de esplenocitos activados 3% y células de timoma murino mutante EL4 irradiadas con rayos gamma (5×10^4 /pocillo) durante siete días a 37 °C en una atmósfera de CO₂ 5%.

Pruebas primarias:

Se prepararon cultivos de células B y se analizaron primero 34 sobrenadantes para determinar la capacidad de unirse a CD45RO humano y cino mediante un ensayo Mirrorball FMAT basado en microesferas. Se trataba de un ensayo homogéneo que utiliza CD45RO humano y cino biotinilado recubierto en microesferas de estreptavidina y un conjugado FITC específico del fragmento Fc γ anti-conejo como agente revelador. Después del análisis primario, los sobrenadantes positivos se consolidaron en placas maestras de 96 pocillos con código de barras, mientras que las células B en placas de cultivo celular se congelaron a -80 °C. Para determinar la unión celular y la reactividad cruzada entre especies, los sobrenadantes de las placas maestras luego se analizaron

para determinar su unión a células HEK293 transfectadas con CD45RO humano y chino.

Método de focos fluorescente:

Para permitir la recuperación de genes de región variable de anticuerpos de células B específicas de antígeno en un pocillo que contenía una población heterogénea de células B, se realizó una etapa de deconvolución. Para ello se utilizó el método de focos fluorescentes (Clargo et al., 2014. Mabs 2014 Jan. 1: 6(1) 143-159; EP1570267B1). Brevemente, las células B secretoras de inmunoglobulina de un pocillo positivo se mezclaron con microesferas de estreptavidina (New England Biolabs) recubiertas con CD45RO humano biotinilado y una dilución final 1:1200 de un conjugado FITC específico de fragmento Fcγ anti-conejo y cabra (Jackson). Después de la incubación estática a 37° C durante 1 hora, se pudieron identificar las células B específicas de antígeno debido a la presencia de un halo fluorescente alrededor de esa célula B. A continuación, se recogieron varios de estos clones de células B individuales y se depositaron en tubos de PCR. El método de los focos fluorescentes también se utilizó para identificar células B específicas de antígeno a partir de una población heterogénea de células B directamente de la médula ósea de conejos inmunizados.

Descubrimiento de la región V del anticuerpo:

Los genes de la región variable de los anticuerpos se recuperaron a partir de células individuales mediante transcripción inversa (RT)-PCR. El ADNc se sintetizó a partir de células B individuales utilizando mezcla maestra SuperScript IV VILO (Life Technologies) en presencia de 0,5% de Nonidet P-40 (Roche). Utilizando cebadores específicos de la región variable de las cadenas pesada y liviana se realizaron dos rondas de PCR, con la PCR secundaria anidada que incorpora sitios de restricción en los extremos 3' y 5'

que permiten la clonación de la región variable en vectores de expresión de mamíferos Fab X y Fab Y que permiten la expresión de Fab-X/Fab-Y (por ejemplo, como se describe en los documentos WO 2015/181282 y WO 2017/093402).

Los constructos de Fab X y Fab Y para los vectores de expresión se cotransfectaron en células Expi293 utilizando Expifectamine (Life Technologies) y el anticuerpo recombinante se expresó en matraces de cultivo tisular en un volumen de 30 ml. Después de 5-7 días de expresión, se recolectaron los sobrenadantes. Para confirmar la especificidad de los anticuerpos recombinantes, se analizaron los sobrenadantes en un ensayo de unión homogéneo basado en fluorescencia en células HEK293 transfectadas con CD45RO humano y cino.

Evaluación de la unión del anticuerpo y destrucción de células Jurkat

Se utilizaron los métodos descritos en los otros Ejemplos para evaluar la unión del anticuerpo a CD45 y la capacidad de destruir células Jurkat.

Resultados:

El análisis de una serie de clones para los valores de KD para la unión de CD45RO humano y cino medido por resonancia de plasmón superficial (SPR) y la destrucción de células Jurkat como anticuerpo monoespecífico identificó dos clones para su estudio y desarrollo posteriores. El anticuerpo 17415 y el anticuerpo 17552 se unieron tanto al CD45 humano como al cino. El anticuerpo 17415 de conejo obtuvo una potente destrucción de células Jurkat que expresan CD45. Posteriormente se desarrollaron anticuerpos biparatópicos basados en el uso de secuencias derivadas del anticuerpo 17415 como "brazo destructivo" del anticuerpo biparatópico, mientras que las secuencias derivadas del anticuerpo 17552 se desarrollaron como brazo "no destructivo" o "auxiliar" de los anticuerpos biparatópicos.

Las secuencias 17415 y 17552 se humanizaron como se describe más adelante.

Ejemplo 3: Comparación de la capacidad de los anticuerpos 17415 y 4133 para destruir células que expresan CD45 humano

Introducción:

La capacidad del anticuerpo 17415 para destruir células diana que expresan CD45 se comparó con la del anticuerpo 4133 descrito en la solicitud internacional n° PCT/EP2021/078516 (publicada como WO 2022/079199 A1).

Ensayo de reducción de PBMC

Las PBMC humanas derivadas de conos de plaqueta-aféresis de leucocitos sanguíneos (NHSBT Oxford) se depositaron como alícuotas congeladas. Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de células congeladas, cada uno de los cuales que contiene 5×10^7 células en 1 ml, en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 50 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y resuspendieron en 50 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y se contaron utilizando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. A continuación, se añadieron 1×10^5 células por pocillo en 50 µl a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (N° de cat. 07-200-95). En este ensayo se utilizaron PBMC de UCB-Cone 1014.

Se prepararon patrones de 400 nM de anticuerpos IgG1 VR17415 VR4133 y 17552 purificados y de IgG1 de control del isotipo (5604) en medio completo en una microplaca Greiner

de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5, siete veces (dos para el control del isotipo) para producir una curva de dosis de 8 puntos. Se añadieron 50 µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 200-0,0026nM) a las células y se incubaron durante 4 horas a 37 °C, CO₂ 5%. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 minutos, a temperatura ambiente, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405 y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % + NaN₃ 0,1 % + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3. Los linfocitos se separaron mediante un gráfico de FSC frente a SSC y los recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8. 1 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

En la Figura 1 se muestra el porcentaje de reducción de linfocitos en una población de PBMC tratada con anticuerpos IgG1 CD45. VR17415 tiene una EC50 de 0,71 y VR4133 tiene una EC50 de 44,13, lo que muestra una diferencia >60 veces entre las EC50 de los anticuerpos. VR17552 IgG1 fue incapaz de reducir los linfocitos.

Ejemplo 4: Humanización del anticuerpo 17415

El anticuerpo de conejo 17415 obtenido y evaluado mediante los métodos expuestos en el Ejemplo 2 se humanizó mediante el injerto de las CDR de la región V de conejo en estructuras de la región V de anticuerpos de línea germinal

humana. Con el fin de recuperar la actividad del anticuerpo, también se conservaron en la secuencia humanizada varios residuos de la estructura de la región V de conejo. Estos residuos se seleccionaron utilizando el protocolo descrito por Adair et al. (1991) (Anticuerpos humanizados - WO91/09967, incorporado por referencia tanto en su totalidad como específicamente en relación con el protocolo de selección de residuos para su retención durante la humanización). En las Figuras 2 y 3 se muestran los alineamientos de las secuencias de la región V del anticuerpo de conejo (donante) con las secuencias de la región V de la línea germinal humana (aceptora), junto con las secuencias humanizadas diseñadas. Las CDR injertadas de las secuencias donantes a las aceptoras son las definidas por Kabat (Kabat et al. (supra)), con la excepción de la CDR-H1, en la que se utiliza la definición combinada Chothia/Kabat (ver Adair et al., 1991 Humanised antibodies, WO91/09967).

La región V humana IGKV1-9 y la región J IGKJ4-1 (IMGT, <http://www.imgt.org/>) se eligieron inicialmente como aceptora para las CDR de cadena liviana del anticuerpo 17415. Los residuos donantes de la estructura de la cadena liviana del anticuerpo de conejo se mantuvieron en las posiciones 2 (Valina, V2), 3 (Valina, V3) y 63 (Lisina, K63) (Figura 2). La CDRL3 del anticuerpo 17415 contiene un residuo de cisteína no apareado/libre en la posición 90 (C90): los residuos de cisteína libres pueden estar sujetos a modificaciones postraduccionales, tales como la cisteinilación, y pueden contribuir a la agregación covalente y a una estabilidad deficiente. La cadena lateral del aminoácido cisteína tiene características tanto polares como hidrofóbicas, por lo que en las variantes de injerto humanizadas gL2 a gL5, el residuo C90 se eliminó mediante mutación a aminoácidos con cadenas laterales polares (serina (C90S), glutamina (Q90V)) o hidrofóbicas (alanina (C90A), valina (C90V)) (Figura 2).

La región V humana IGHV3-72 y la región J IGHJ4-1 (IMGT, <http://www.imgt.org/>) se eligieron como aceptoras para las CDR de cadena pesada del anticuerpo 17415. Al igual que muchos anticuerpos de conejo, la estructura 3 de la región VH del conejo 17415 carece de un residuo (78, con referencia a SEQ ID NO: 17 gH1) en el bucle entre las cadenas D y E de la hoja beta: en las variantes de injerto humanizadas iniciales, la brecha se rellenó con el residuo correspondiente (lisina 78, K78) de la secuencia aceptora humana seleccionada (Figura 3). Los residuos donantes de la estructura de la cadena pesada del anticuerpo de conejo se retuvieron en las posiciones 23 (treonina, T23), 49 (isoleucina, I49), 74 (lisina, K74), 76 (serina, S76), 79 (treonina, T79), 81 (valina, V81), 99 (ácido glutámico, E99) y 100 (leucina, L100). En algunas variantes humanizadas del injerto (gH2 a gH4), se eliminó un enlace disulfuro formado entre los residuos de cisteína en las posiciones 36 (C36) y 51 (C51) mediante la mutación de ambos residuos a serina (S36 y S51), alanina (A36 y A51) o valina (V36 y V51) (Figura 3).

Los genes que codifican las variantes de secuencias de la región V humanizada de las cadenas pesada y liviana se diseñaron y construyeron mediante un método de síntesis automatizado por ATUM (Newark, CA). Para la expresión transitoria en células de mamífero, los genes de la región V de la cadena liviana humanizada se clonaron en el vector de expresión de la cadena liviana UCB pMhCK, que contiene ADN que codifica la región constante de la cadena Kappa humana (alotipo Km3). Los genes de la región V de la cadena pesada humanizada se clonaron en el vector de expresión de la cadena pesada gamma-1 humana UCB pMhg1 L234A L235A, que contiene ADN que codifica la región constante de la cadena pesada gamma-1 humana (alotipo G1m17,1) con mutaciones L234A y L235A para reducir la unión a los receptores gamma Fc. Los

genes de la región V de conejo del anticuerpo 17415 también se clonaron en vectores de expresión de anticuerpos humanos: la región V de la cadena liviana se clonó en una versión modificada del vector Kappa humano que comprende la mutación S171C, para recrear el enlace disulfuro adicional que se encuentra en las cadenas ligeras VK de conejo. La cotransfección de los vectores resultantes de las cadenas pesada y liviana en células en suspensión CHOS-XE dio lugar a la expresión de los anticuerpos recombinantes humanizados y quiméricos en el formato LALA IgG1 humana. Se evaluó la actividad de los anticuerpos en un ensayo in vitro de reducción de linfocitos T, así como sus propiedades de unión. Todos los anticuerpos humanizados presentaron una potencia (EC50) y una eficacia (Emax) reducidas en comparación con el anticuerpo parental quimérico 17415 (Tabla 3 a continuación).

Tabla: 3

Variante de anticuerpo 17415				Ensayo de reducción de linfocitos	
Injerto de cadena liviana	Injerto de cadena pesada	Mutación de cadena liviana	Mutaciones de cadena pesada	EC50 (nM) (n=1)	Emax (%) (n=1)
cL	cH	-	-	0,5	84,2
gL1	gH1	-	-	4,48	43,4
gL2	gH1	C90S	-	11,58	53,9
gL3	gH1	C90A	-	23	65,8
gL4	gH1	C90V	-	10,38	53,4
gL5	gH1	C90Q	-	38,45	55,2
gL1	gH2	-	C36S, C51S	4,92	58,7
gL1	gH3	-	C36A, C51A	6,32	53
gL1	gH4	-	C36V, C51V	6,5	40,1

Para dilucidar si la cadena pesada o liviana humanizada era responsable de la pérdida de actividad funcional, los injertos de cadena liviana y pesada humanizados gL1 y gH1 se expresaron en combinación con la cadena de anticuerpo quimérico respectiva (cL y cH) y se examinó la actividad de los anticuerpos en el ensayo de reducción de linfocitos T, y su afinidad de unión para CD45 humano mediante SPR utilizando los métodos expuestos en los Ejemplos posteriores, con los resultados presentados en la Tabla 4 a continuación. El injerto de cadena pesada humanizado apareado con la cadena liviana quimérica (cLgH1) demostró una potencia y eficacia reducidas en la reducción de células T y una afinidad de unión reducida para CD45. Por el contrario, la combinación de la cadena liviana humanizada apareada con la cadena pesada del anticuerpo quimérico (gL1cH), mantuvo la afinidad de unión para CD45 y la potencia en el ensayo de reducción de células T, pero tuvo una eficacia reducida en comparación con el anticuerpo parental 17415.

La combinación de las variantes humanizadas de la cadena pesada gH2 a gH4 con la cadena liviana quimérica reveló que la eliminación del enlace disulfuro formado entre C36 y C51 mediante la mutación de los residuos de cisteína por serina (cLgH2) produjo un aumento inesperado de la afinidad de unión por CD45 y una mayor potencia y eficacia en el ensayo de reducción de linfocitos T en comparación con cLgH1. Por el contrario, el reemplazo de los residuos de cisteína por valina (cLgH4) produjo una mayor pérdida de afinidad de unión y de función en el ensayo de reducción de linfocitos T (en comparación con cLgH1), mientras que el reemplazo de los residuos por alanina (cLgH3) tuvo escaso impacto en la unión o en la actividad de reducción de linfocitos T (Tabla B). La combinación de las variantes humanizadas de injerto de cadena

liviana gL2 a gL5 con la cadena pesada quimérica demostró que la eliminación del residuo de cisteína libre mediante la mutación a serina (C90S, gL2cH) mantuvo la afinidad de unión, pero produjo alguna pérdida de actividad funcional en el ensayo de reducción de linfocitos T, con una potencia y eficacia reducidas en comparación con gL1cH. La mutación de C90 a alanina (gL3cH), valina (gL4cH) o glutamina (gL5cH) produjo una pérdida de afinidad de unión a CD45 y una disminución de la actividad de reducción de linfocitos T (Tabla 4).

Tabla 4

Variantes de anticuerpo 17415				Ensayo de reducción de linfocitos				
Injer- to de cade- na livia- na	Injer- to de cade- na pesa- da	Muta- ción de cadena liviana	Mutacio- nes de cadena pesada	EC50 (nM) (n=1)	E _{max} (%) (n=1)	k _a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k _d (s ⁻¹)	Afini- dad (KD) nM
cL	cH	-	-	1,17	82,1	4,42E+0 4	4,29E- 03	97,2
gL1	cH	-	-	1,66 7	36,5	4,98E+0 4	4,57E- 03	91,7
gL2	cH	C90S	-	14,2	52,2	4,66E+0 4	4,50E- 03	96,6
gL3	cH	C90A	-	8,36	32,1	4,79E+0 4	8,21E- 03	171,3
gL4	cH	C90V	-	4,34	42,4	4,75E+0 4	5,58E- 03	117,5
gL5	cH	C90Q	-	4,12	27,1	4,85E+0 4	1,17E- 02	241,8
cL	gH1	-	-	5,61	63,9	4,48E+0 4	1,83E- 02	407,3
cL	gH2	-	C36S, C51S	4,22	70,1	3,83E+0 4	1,27E- 02	332,5
cL	gH3	-	C36A, C51A	4,07	65,1	3,08E+0 4	1,43E- 02	465,3

cL	gH4	-	C36V, C51V	7,66	59,4	4,77E+0 4	2,81E- 02	588,7
----	-----	---	---------------	------	------	--------------	--------------	-------

Con el fin de recuperar la actividad funcional, las cadenas pesadas y ligeras humanizadas se manipularon genéticamente según se describe en la presente. En los injertos de cadena pesada gH5 y gH6, se eliminó el residuo 78 (lisina, K78) para restablecer la brecha en la estructura 3 y recapitular la arquitectura del bucle de conejo entre las cadenas D y E de la hoja beta: el injerto gH6 también incluyó las mutaciones C36S y C51S para eliminar el enlace disulfuro entre CDRH1 y CDRH2. En los injertos de cadena liviana gL6 y gL7, se introdujeron residuos donantes adicionales de la estructura de cadena liviana de conejo en las posiciones 10 (serina, S10), 42 (glutamina, Q42), 83 (alanina, A83), 106 (ácido glutámico, E106) y 108 (valina, V108): el injerto gL7 también incluyó la mutación C90S para eliminar el residuo de cisteína libre en CDRL3. Se diseñaron cadenas ligeras humanizadas adicionales utilizando la región V humana IGKV4-1 más la región J IGKJ4 (IMGT, <http://www.imgt.org/>) como estructura aceptora (Figura 2). Los residuos donantes de la estructura de la cadena liviana del anticuerpo de conejo se retuvieron en cinco o más posiciones del grupo que comprende los residuos 2 (Valina, V2), 4 (Leucina, L4), 12 (Serina, S12), 19 (Valina, V19), 60 (Serina, S60), 63 (Lisina, K63), 70 (Ácido glutámico, E70), 83 (Alanina, A83), 85 (Treonina, T85), 106 (Ácido glutámico, E106) y 108 (Valina, V108). Los injertos gL15 y gL16 también incluyeron la mutación C90S para eliminar el residuo de cisteína libre en CDRL3. Las cadenas pesadas y ligeras humanizadas se expresaron como anticuerpos hIgG1 LALA en diferentes combinaciones de injertos, y se analizó la actividad funcional de los anticuerpos resultantes en el ensayo de reducción de linfocitos T y su afinidad de unión a CD45 para SPR (Tabla 5 a continuación).

Tabla 5

Variantes de anticuerpo 17415				Ensayo de reducción de linfocitos T				
Injer- to de cade- na livia -na	Injer- to de cade- na pesa- da	Mutan- tes de cade- na livia -na	Mutan- tes de cade- na pesa- da	EC50 (nM)	E _{max} (%)	k _a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k _d (s ⁻¹)	Afini- dad (KD) nM
cL	cH	-	-	0,41 (n=3) Rango (0,32- 0,47)	85,3 (n=3) Rango (80,4- 90,7)	4,15E+04	4,34E-03	104,7
gL1	gH1	-	-	10,84 (n=2) Rango (8,69- 12,99)	60,45 (n=2) Rango (56,9- 64,0)	5,99E+04	2,51E-02	418,5
gL1	gH5	-	-	19,17 (n=2) Rango (12,48- 25,86)	58,75 (n=2) Rango (55,5- 62,0)	5,18E+04	1,45E-02	279,9
gL6	gH5	-	-	1,99 (n=2) Rango (0,85- 3,13)	88,45 (n=2) Rango (82,8- 94,1)	5,56E+04	1,61E-02	290,1
gL7	gH5	C90S	-	2,4 (n=2) Rango (1,90- 2,89)	88,15 (n=2) Rango (83,8- 92,5)	4,62E+04	1,57E-02	339,7
gL1	gH6	-	C36S, C51S	-	-	3,63E+04	6,50E-03	179,2
gL6	gH6	-	C36S, C51S	1,76 (n=2) Rango (1,63- 1,89)	76,15 (n=2) Rango (73,4- 78,9)	3,46E+04	7,74E-03	223,8
gL7	gH6	C90S	C36S, C51S	0,81 (n=3) Rango	96,7 (n=3) Rango	3,85E+04	8,78E-03	228

				(0,56- 1,18)	(76,9- 107,8)			
gL13	gH5	-		2,62 (n=2) Rango (1,55- 3,68)	76,0 (n=2) Rango (61,3- 90,7)	4,74E+04	1,42E-02	299,6
gL14	gH5	-	-	6,4 (n=1)	97,2 (n=1)	4,90E+04	1,35E-02	274,5
gL15	gH5	C90S		3,61 (n=2) Rango (1,97- 5,24)	83,8 (n=2) Rango (76,3- 91,3)	4,81E+04	1,33E-02	276,9
gL16	gH5	C90S	-	4,05 (n=2) Rango (3,98- 4,12)	86,45 (n=2) Rango (83,2- 89,7)	5,10E+04	1,27E-02	248,7
gL13	gH6	-		1,21 (n=2) Rango (0,37- 2,05)	80,0 (n=2) Rango (72,2- 87,7)	3,61E+04	6,98E-03	193,2
gL14	gH6	-	C36S, C51S	3,46 (n=2) Rango (2,45- 4,47)	72,6 (n=2) Rango (64,8- 80,4)	3,63E+04	6,04E-03	166,3
gL15	gH6	C90S		0,53 (n=3) Rango (0,26- 0,89)	83,5 (n=3) Rango (77,1- 95,6)	3,90E+04	6,28E-03	161,1
gL16	gH6	C90S	C36S, C51S	1,10 (n=3) Rango (0,61- 1,41)	85,5 (n=3) Rango (62,2- 104,1)	3,82E+04	4,91E-03	128,7

La supresión del residuo 78 en la estructura 3 del injerto de cadena pesada humanizado gH5 aumentó la afinidad de unión por CD45 (Tabla 5, gL1gH1 (418,5nM) en comparación con gL1gH5 (279,9nM)) pero produjo una reducción de la

potencia y eficacia en el ensayo de reducción de células T. En consonancia con el aumento inesperado de la afinidad de unión observado después de la eliminación del enlace disulfuro en el injerto de cadena pesada humanizada gH2, la afinidad de unión para CD45 aumentó aún más en el injerto gH6 (gLlgH6 179,2 nM).

La actividad de reducción de células T de los anticuerpos 17415 humanizados que comprenden los injertos gH5 y gH6 se restableció aumentando el contenido de residuos donantes en los injertos de cadena liviana gL6 y gL7 (gLlgH5 EC50 19.17nM, Emax 58,75% en comparación con gL6gH5 EC50 1,99nM, Emax 88,45% o gL7gH5 EC50 2,4nM, Emax 88,15%, y gL6gH6 EC50 1,76nM, Emax 76,15% o gL7gH6 EC50 0,63nM, Emax 106%). Del mismo modo, el injerto de las CDR de cadena liviana en la estructura aceptora humana alternativo IGKV4-1 más la región J de JK4 (injertos gL13 a gL16) proporcionó una mayor potencia y eficacia de la reducción de células T cuando se apareó con los injertos de cadena pesada gH5 y gH6 (en relación con gLlgH5 y gLlgH6), mientras que se mantiene la afinidad por CD45 (Tabla C).

En el Ejemplo 6 se describen algunos de los experimentos que forman parte de la humanización del anticuerpo 17415 original.

Ejemplo 5: Humanización del anticuerpo 17552

El anticuerpo de conejo 17552 obtenido y evaluado mediante los métodos expuestos en el Ejemplo 2 se humanizó mediante el injerto de las CDR de la región V de conejo en estructuras de la región V de anticuerpos de línea germinal humana. Con el fin de recuperar la actividad del anticuerpo, también se conservaron en la secuencia humanizada varios residuos de la estructura de la región V de conejo. Estos residuos se seleccionaron utilizando el protocolo descrito por Adair et al. (1991) (Anticuerpos humanizados -

WO91/09967-supra). En la Figura 4 se muestran los alineamientos de las secuencias de la región V del anticuerpo de conejo (donante) con las secuencias de la región V de la línea germinal humana (aceptora), junto con las secuencias humanizadas diseñadas. Las CDR injertadas de las secuencias donantes a las aceptoras son las definidas por Kabat (Kabat et al. (supra)), con la excepción de la CDR-H1, en la que se utiliza la definición combinada Chothia/Kabat (ver Adair et al., 1991 Humanised antibodies, WO91/09967).

La región V humana IGKV1-8 y la región J IGKJ4-1 (IMGT, <http://www.imgt.org/>) se eligieron inicialmente como aceptora para las CDR de cadena liviana del anticuerpo 17552. Los residuos estructurales de la cadena liviana en las variantes de injerto humanizadas proceden todos del gen de la línea germinal humana, con la excepción de uno o más residuos del grupo que comprende los residuos 2, 3 y 63 (con referencia a SEQ ID NO: 3 gL1), donde se conservaron los residuos donantes Leucina (L2), Valina (V3) y Ácido glutámico (E63), respectivamente, (Figura 4). Un residuo de Cisteína libre en la posición 77 (C77) en la estructura 3 se mutó a Serina (C77S).

Se eligió la región V humana IGHV4-4 y la región J IGHJ4-1 (IMGT, <http://www.imgt.org/>) como aceptora para las CDR de cadena pesada del anticuerpo 17552. Al igual que muchos anticuerpos de conejo, el gen VH del anticuerpo 17552 es más corto que el aceptor humano seleccionado. Cuando se alinea con la secuencia del aceptor humano, la estructura 1 de la región VH del anticuerpo 17552 carece del residuo N-terminal, que se conserva en el anticuerpo humanizado (Figura 4). La estructura 3 de la región VH del conejo 17552 también carece de dos residuos (75 y 76, con referencia a SEQ ID NO: 17, gH1) en el bucle entre las cadenas de hojas beta D y E: en las variantes de injerto humanizadas la brecha se rellena con los residuos correspondientes (lisina 75, K75;

asparagina 76, N76) de la secuencia aceptora humana seleccionada (Figura 4). Los residuos de la estructura de la cadena pesada en las variantes de injerto humanizadas proceden todos del gen de la línea germinal humana, a excepción de los residuos 23, 47, 67, 71, 73, 78 y 96 (con referencia a SEQ ID NO: 17, gH1), donde se conservaron los residuos donantes treonina (T23), tirosina (Y47), fenilalanina (F67), lisina (K71), serina (S73), valina (V78) y treonina (T96), respectivamente. En algunas variantes humanizadas del injerto, se modificó un sitio potencial de isomerización del ácido aspártico en CDRH3 mediante el reemplazo del residuo de ácido aspártico en la posición 101 con ácido glutámico (D101E), o el reemplazo del residuo de glicina en la posición 102 por serina (G102S) o alanina (G102A).

Los genes que codifican las variantes de secuencias de la región V humanizada de las cadenas pesada y liviana se diseñaron y construyeron mediante un método de síntesis automatizado por ATUM (Newark, CA). Para la expresión transitoria en células de mamífero, los genes de la región V de la cadena liviana humanizada se clonaron en el vector de expresión de la cadena liviana UCB pMhCK, que contiene ADN que codifica la región constante de la cadena Kappa humana (alotipo Km3). Los genes de la región V de la cadena pesada humanizada se clonaron en el vector de expresión de la cadena pesada gamma-1 humana UCB pMhg1 L234A L235A, que contiene ADN que codifica la región constante de la cadena pesada gamma-1 humana (alotipo G1m17,1) con mutaciones L234A y L235A para reducir la unión a los receptores gamma Fc. Los genes de la región V de conejo del anticuerpo 17552 también se clonaron en vectores de expresión de anticuerpos humanos: la región V de la cadena liviana se clonó en una versión modificada del vector Kappa humano que comprende la mutación S171C, para recrear el enlace disulfuro adicional que se

encuentra en las cadenas ligeras VK de conejo. La cotransfección de los vectores resultantes de las cadenas pesada y liviana en células en suspensión CHOS-XE dio lugar a la expresión de los anticuerpos recombinantes humanizados y quiméricos en el formato LALA IgG1 humana. Se evaluó la afinidad de unión de los anticuerpos por CD45 mediante SPR Tabla 6.

El anticuerpo humanizado 17552 gL1gH1 conservó la afinidad de unión por CD45 en relación con el anticuerpo quimérico parental de conejo (gL1gH1, 7,9nM en comparación con cLcH, 5,6nM). La modificación del posible sitio de isomerización del ácido aspártico mediante la mutación del residuo Glicina 102 a Alanina (G102A) en el injerto de cadena pesada humanizada gH4 mantuvo la afinidad en comparación con gL1gH1 (gL1gH4, 6,5nM), mientras que las mutaciones D101E (gH2) y G102S (gH3) produjeron una reducción de la afinidad de unión (gL1gH2, 72,3nM y gL1gH3, 20,7nM).

Tabla 6

Variantes de anticuerpo 17415					
Injerto de cadena liviana	Injerto de cadena pesada	Mutación de cadena pesada	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	Afinidad (KD) nM
cL	cH	-	1,21E+05	6,83E-04	5,6
gL1	gH1	-	1,10E+05	8,75E-04	7,9
gL1	gH2	D101E	1,78E+05	1,29E-02	72,3
gL1	gH3	G102S	8,90E+04	1,84E-03	20,7
gL1	gH4	G102A	9,31E+04	6,06E-04	6,5
gL2	gH1	-	8,55E+04	9,04E-04	10,6

Ejemplo 6: Ensayo de reducción de células PBMC humanas usando sobrenadantes de anticuerpos monoespecíficos con diferentes

permutaciones de variantes de injerto de cadena liviana y pesada 17415

Presentaciones:

El presente Ejemplo proporciona una descripción más detallada de los experimentos implicados en la humanización del anticuerpo 17415 de conejo original también descrito en el Ejemplo 3 anterior.

Materiales y métodos - Ensayo de reducción de PBMC:

Las PBMC humanas derivadas de conos de plaqueta-aféresis de leucocitos sanguíneos (NHSBT Oxford) se depositaron como alícuotas congeladas. Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de células congeladas, cada uno de los cuales que contiene 5×10^7 células en 1 ml, en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 50 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y resuspendieron en 50 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y se contaron utilizando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. A continuación, se añadieron 1×10^5 células por pocillo en 50 µl a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (N° de cat. 07-200-95). En este ensayo se utilizaron PBMC de 7 donantes, UCB Cones 032, 034, 036, 037, 045, 858 y 1031.

Se prepararon patrones de 400 nM de cada sobrenadante del injerto IgG1 LALA 17415 humanizado en medio completo en una microplaca Greiner de 96 pocillos de no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5,

siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos. Se añadieron 50µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 200-0,0026nM) a las células y se incubaron durante 4 horas a 37°C, CO₂ 5%. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405 y se resuspendieron las células en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % + NaN₃ 0,1 % + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se volvieron a centrifugar y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Para el análisis de linfocitos, se añadieron a los pocillos 20 µl de Tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™ (Invitrogen, dilución 1:5000) y se incubaron durante 15 minutos a 4°C. Para la tinción de CD3, las células se tiñeron con 20 µl de solución de anticuerpo que contiene CD3 FITC anti-humano (BD Biosciences, cat. n° 561806, dilución 1:50) y tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™ (Invitrogen, dilución 1:5000). Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405 y se resuspendieron las células en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % + NaN₃ 0,1 % + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se volvieron a centrifugar y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3 (Screener PLUS y iQUE 3). Los recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8.1 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

El porcentaje de reducción de linfocitos en una población de PBMC tratada con cadena pesada H1 IgG1 LALA 17415 y 5 injertos de cadena liviana (L1-5) se muestra en la Figura 5(A). El porcentaje de reducción de linfocitos en una población de PBMC tratada con cadena liviana L1 17415 y 4 injertos de cadena pesada (H1-4) se muestra en la Figura 5(B). Se muestran los datos de un donante, Cone 1031. Las alteraciones de humanización tanto en la cadena pesada como en la liviana han reducido la EC50 y la Emax del anticuerpo IgG1 LALA 17415 en comparación con el quimérico (cLcH).

Para identificar las mutaciones de humanización que reducen la destrucción funcional del anticuerpo IgG1 17415, cada injerto de cadena liviana (L1-5) se apareó con la cadena pesada quimérica (cH) y el porcentaje de reducción de linfocitos en una población de PBMC se muestra en la Figura 6(A). Todos los injertos de cadena liviana humanizados mostraron una EC50 y Emax reducidas del anticuerpo IgG1 LALA 17415 en comparación con el quimérico (cLcH). Cada injerto de cadena pesada (H1-4) se apareó con la cadena liviana quimérica (cL) y el porcentaje de reducción de linfocitos en una población de PBMC se muestra en la Figura 6(B). Se muestran los datos de un donante, Cone 858. Los injertos de cadena pesada humanizada muestran un menor impacto en la EC50 y Emax del anticuerpo IgG1 LALA 17415 en comparación con el quimérico (cLcH), lo que indica que las cadenas ligeras humanizadas contribuyen más a la pérdida de destrucción funcional.

Para aumentar la destrucción funcional de IgG1 LALA 17415 humanizado, se probaron más cadenas pesadas (H5 y H6) con más cadenas ligeras (L6, 7, 13, 14, 15, 16). En la Figura 7 se muestra el porcentaje de reducción de células T en la población de PBMC tratada con estos injertos humanizados. Los injertos humanizados 17415 con cadena pesada H5 se muestran en la Figura 7(A) y los injertos humanizados 17415

con cadena pesada H6 se muestran en la Figura 7(B). Los datos del Cone 036 se muestran como representativos de los datos de 3 donantes. Los injertos 17415 humanizados que contienen cadena pesada H6 muestran valores Emax y EC50 similares a los del 17415 quimérico (cLcH) en comparación con H5. De los injertos que contienen H6, los injertos de cadena liviana L7, L15 y L16 muestran las mejores propiedades funcionales y de humanización.

Ejemplo 7: Ensayo de reducción de células Jurkat humanas usando sobrenadantes de anticuerpos monoespecíficos con diferentes permutaciones de variantes de injerto de cadena liviana y pesada 17415

Ensayo de reducción de Jurkat

Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de Jurkat (líneas celulares de leucemia aguda de células T) en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 20 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y se resuspendieron en 20 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y se contaron utilizando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. 1×10^5 células en 50 µl de medio completo a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat n° 07-200-95).

Se prepararon patrones de 400 nM de cada sobrenadante de injerto de IgG1 LALA 17415 humanizado en medio completo en una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos. Se

añadieron 50 µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 200-0,0026nM) a las células y se incubaron durante 4 horas a 37 °C 37°C, CO2 5%. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + NaN₃ 0,1% + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Se añadieron 10 µL de Sytox Blue (Invitrogen, dilución 1:500) a los pocillos y se incubó durante 10 min, RT. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue Screener PLUS y iQUE 3. Los recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8,1 8. 1 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

Los resultados obtenidos para las diferentes permutaciones de variantes de injerto de cadena liviana y pesada de 17415 se muestran en la Figura 8, partes (A) a (D).

Ejemplo 8: Ensayo de reducción de células PBMC humanas usando anticuerpos monoespecíficos purificados con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 y 16

Materiales & Métodos - Ensayo de reducción de PBMC

Las PBMC humanas derivadas de conos de plaqueta-aféresis de leucocitos sanguíneos (NHSBT Oxford) se depositaron como alícuotas congeladas. Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de células congeladas, cada uno de los cuales que contiene 5×10^7 células en 1 ml, en un

baño de agua a 37 °C y se añadió a 50 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y se resuspendieron en 50 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y luego se contaron usando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. 1×10^5 células por pocillo en 50 μ l a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 07-200-95). En este ensayo se usaron PBMC de 3 donantes, UCB-Conos 1033, 1001 y 1000.

Se prepararon patrones de 500 nM de cada injerto de IgG1 LALA 17415 humanizado purificado, injerto de IgG1 LALA 17552, IgG1 17552, y control de isotipo IgG1 (5604) en medio completo en una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos, excepto 17552 IgG1 e IgG 15604, en los que se utilizó una concentración (concentración de pocillo final 250 nM). Se añadieron 50 μ l de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 250-0,0032 nM) a las células y se incubaron durante 4 horas a 37 °C 37°C, 5% CO₂. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + 0,1 % NaN₃ + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 μ l de medio residual. Para la tinción CD3, las células se tiñeron con 20 μ l de solución de anticuerpo que contiene CD3 FITC anti-humano (BD Biosciences, cat n°. 561806, dilución 1:50) y Tinción de células muertas IR cercano fijable

LIVE/DEAD™(Invitrogen, dilución 1:5000) durante 30 min, 4 °C. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + 0,1 % NaN₃+ EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron. Las células se lavaron de nuevo, se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3. Los recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8,1 8. 1 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

El porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC tratada con injertos de IgG1 LALA 17415 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7, 15 y 16 y con injertos de IgG1 LALA 17552 humanizados que contienen la modificación de la cadena pesada de 17415 1 y 4 se muestran en la Figura 9. Los datos del Cone 1000 se muestran como representativos de los datos de 3 donantes. Todos los injertos mostraron reducción de las células T con un rango de Emax de 63,4-83,3% y rango de EC50 de 0,21-0,85 nM. Los injertos de IgG1 LALA 17552 no reducen las células T.

Ejemplo 9: Ensayo de reducción de células Jurkat usando anticuerpos monoespecíficos purificados con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 y 16

Ensayo de reducción de Jurkat:

Antes de realizar un ensayo, 1 vial de Jurkat (líneas celulares de leucemia aguda de células T) se descongeló en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 20 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y se resuspendieron en 20 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y se contaron utilizando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. 1×10^5 células en 50 μ l de medio completo a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 07-200-95).

Se prepararon patrones de 500 nM de cada injerto de IgG1 LALA 17415 humanizado, IgG1 17552, y control de isotipo IgG1 (5604) en medio completo en una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos, excepto 17552 IgG1 e IgG 15604, en las que se utilizó una concentración (concentración de pocillo final 250 nM). Se añadieron 50 μ l de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 250-0,0032nM) a las células y se incubaron durante 4 horas a 37 °C 37°C, 5% CO₂. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + 0,1 % NaN₃ + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 μ l de medio residual. Se añadieron 10 μ L de Sytox Blue (Invitrogen, dilución 1:500) a los pocillos y se incubó durante 10 mins, RT. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3. Los

recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8,1 8. 1 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

El porcentaje de reducción de Jurkat células en una población de PBMC tratada con injertos de IgG1 LALA 17415 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7, 15 y 16 se muestran en la Figura 10. Todos los injertos de 17415 mostraron reducción de células Jurkat con un rango de Emax de 87,9-89,4% y rango de EC50 de 0,08-0,59nM. IgG1 17552 no redujo las células Jurkat.

Ejemplo 10: Evaluación de la unión de anticuerpos CD45 monoespecíficos para células ExpiHEK que expresan CD45 humano

Materiales & Métodos:

Las células Expi293F™ (Gibco) se transfectaron con ARNm de CD45 RO ECD humano utilizando el reactivo de transfección Lipofectamine™ RNAiMAX (RNAiMAX, Invitrogen). Las células Expi293F se prepararon a 5×10^5 células / ml en medio de expresión Expi293™ (Gibco) antes de la transfección. Se diluyó un total de 2 µg de ARNm en 100 µl de medio de suero reducido Opti-MEM™ I (Opti-MEM, Invitrogen) y se mezcló con 3 µl de RNAiMAX prediluido en 100 µl de Opti-MEM. Después de 10 - 20 min de incubación a temperatura ambiente, se añadieron 50 µl de mezcla a las células en un volumen final de 0,5 ml de medio en cada pocillo de placa de 24 pocillos (Corning). Las células se incubaron a 37°C, CO₂ 5% durante 18 - 24 horas para permitir la expresión de proteínas. Se recogieron las células de la placa de 24 pocillos y se

diluyeron en 10 ml de tampón FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + NaN_3 0,1% + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) y se centrifugaron (200xg, 6 min). Las células se resuspendieron en 10ml FACS buffer y luego se contaron usando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. 20,000 células por pocillo en 25µl a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 07-200-95).

Se prepararon patrones de 500 nM de cada injerto de IgG1 LALA 17415 humanizado purificados y moléculas de control en buffer FACS en una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en buffer FACS 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos. Se añadieron 25 µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 250-0,0032nM) a las células y se incubaron en un agitador durante 1 h a 4°C. Las células se tiñeron con 25 µl de solución de anticuerpo secundario que contiene fragmento Fab IgG AF488 antihumana, IgG Fcy anti-humano de cabra, (Jackson ImmunoResearch, cat. n°109-547-008, dilución 1:200) y tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™(Invitrogen, dilución 1:5000) durante 1 h, 4 °C. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + 0,1 % NaN_3 + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron. Las células se lavaron de nuevo, y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3. Los Geomean fluorescentes se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas con Graphpad Prism versión 8. 1 (Graphpad).

Secuencias de proteína:

>Hu_CD45_RO ECD (SEQ ID NO: 136)
MTMYLWLKLLAFGFALDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIA
TTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNA
SVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNI
TYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQI
IFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYV
LSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPH
ERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSY
NSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDL

Resultados:

En la Figura 11 se muestran las intensidades fluorescentes medias (IFM, Geomean) de la unión de injertos de IgG1 LALA 17415 humanizados que contienen modificaciones 7, 15 y 16 de la cadena liviana 17415 a células HEK humanas que expresan CD45, junto con un control de isotipo IgG1 (5604).

Ejemplo 11: Producción de anticuerpos de formato biparatópico

Introducción:

Se generaron varios anticuerpos biparatópicos y luego se evaluaron en los Ejemplos posteriores. El presente Ejemplo describe, por lo tanto, un posible enfoque para generar los anticuerpos biparatópicos y su evaluación inicial.

Expresión del anticuerpo parentales:

Para la tecnología de heterodimerización Botón en ojal (KiH), se introdujeron la mutación Botón (T366W) y las mutaciones ojal (T366S L368A Y407V) en los dominios constantes de cadena pesada respectivos para promover la

formación de anticuerpos biparatópicos. Como primer paso se expresaron los anticuerpos parentales. Los genes que codifican las respectivas regiones V de las cadenas liviana y pesada de los anticuerpos se construyeron mediante un método de síntesis automatizada (ATUM). El ADN se amplificó con el kit Plasmid Plus Giga de QIAGEN (cat. n°12991) siguiendo las instrucciones del proveedor y, por último, se transfectó en células CHO-SXE con el kit del sistema de expresión ExpiCHO™ (A29133). Los sobrenadantes se recogieron después de 7 días.

Método de intercambio de proteína:

Los sobrenadantes de IgG1 específica de CD45 se purificaron utilizando 2 columnas MabSelect Sure de 5 ml (Cytiva) unidas a un sistema de purificación AKTA Pure (GE Healthcare Life Sciences). Una vez equilibrada la columna en PBS, el sobrenadante de cultivo clarificado se cargó en la columna a un caudal de flujo de 10 ml/min. Después de la carga, la columna se lavó con 4 CV de PBS y el producto unido se eluyó de la columna con citrato de sodio 0,1 M, pH 3,4. El eluato se neutralizó con 1/5 del volumen de elución con Tris-HCl 2 M, pH 8,5. Una vez eluido y neutralizado, el producto se eliminó de la columna.

Una vez eluido y neutralizado, se determinó la concentración del material de pos-afinidad y se combinaron la cadena pesada 1 con la cadena pesada 2. Se añadió cisteamina (Sigma- M9768) a la mezcla para obtener una concentración final de 5 mM (a partir de un patrón de 500 mM en PBS) y se incubó a temperatura ambiente durante 4 h. A continuación, el material se concentró en aproximadamente 4 ml utilizando unidades de filtra centrífugo Amicon® Ultra-15 (Merck-UFC903024), se cargó en una columna HiLoad 26/600 Superdex 200 pg (Cytiva) y se eluyó con PBS. Las fracciones deseadas se agruparon y se sometieron a eliminación de endotoxinas utilizando una

columna Proteus NoEndoHC (Protein Ark) y finalmente se filtraron estérilmente utilizando una unidad de filtrado al vacío Steriflip™ (Merck).

Caracterización y control de calidad:

La concentración de proteína se calculó después de determinar las lecturas de absorbancia A280 utilizando el sistema Lunatic (Unchained labs). El porcentaje de monómero se determinó mediante la carga de 2 µg de proteína en una columna ACQUITY BEH200 unida a un sistema ACQUITY UPLC de Waters. El análisis HIC se realizó utilizando una columna Dionex ProPac HIC-10 acoplada a un HPLC binario Agilent 1200 con detector de fluorescencia. La SDS-PAGE se realizó utilizando geles de Tris-Glicina 4-20% corridos a 180 V durante 45 minutos. La endotoxina se determinó mediante el sistema Endosafe nexgen-MCS (Charles River). La identificación de la masa de los constructos se determinó mediante el tratamiento de las muestras con agente reductor de muestras NuPAGE™ (10X) (Invitrogen- NP0004) y/o Rapid™ PNGase F (Neb-P0710s) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. A continuación, las muestras se cargaron en un XEVO G2 QToF (Waters) equipado con una columna BioResolveT RP mAb Polyphenyl, 450 Å, 2,7 µm.

Resultados:

Los resultados de experimentos específicos con anticuerpos biparatópicos generados se describen en los Ejemplos siguientes.

Ejemplo 12: Evaluación de la unión de anticuerpos CD45 biparatópicos para células ExpiHEK que expresan CD45 humano y de cino

Introducción:

Se evaluó la capacidad de varios injertos IgG1 LALA 17415-17552 humanizados biespecíficos que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 para unirse a CD45 RO humano o cino expresado por células Expi293F™ (Gibco) humanas, como se explica más adelante. La capacidad de unirse tanto a cino como a humano es útil ya que la primera significa que los anticuerpos se pueden estudiar en monos cino antes de los ensayos en seres humanos.

Materiales y métodos - Método de unión celular

Se utilizó el mismo ensayo de unión celular descrito anteriormente en relación con los anticuerpos CD45 monoespecíficos para evaluar la unión a CD45 en la superficie de células Expi293F™ (Gibco) transfectadas con ARNm de CD45 RO ECD humano o cino utilizando el reactivo de transfección Lipofectamine™ RNAiMAX (RNAiMAX, Invitrogen).

Se prepararon patrones de 500 nM de cada uno de los injertos de IgG1 17415-17552 LALA humanizados purificados y molécula de control en buffer FACS se prepararon como se describió.

Secuencias de proteína:

>Hu_CD45_RO ECD (SEQ ID NO: 136)

MTMYLWLKLLAFGFALDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIA
TTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNA
SVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNI
TYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQI
IFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYV
LSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPH
ERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSY
NSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDL

>Cino_CD45_RO ECD (SEQ ID NO: 137)

MTMCLWLKLLAFVFAFLDTEVFVTGQGSTLSPTVSYLNASETTTPSPSGSTVISTPTIA
 TTTSKPTCAEKYATIPVDYLYNNKTKLFTAKLNVNENVECTNNNHTHNICTNNEVLNLP
 ECKEMNVFVSHNSCTDRHKELKLDVPPEVEKFQLDDCTPDVEANTTICLKWKIETFAC
 DSKSKITYRFQCGNKTYNKEGIYLENLEPEYKCDSEILYNNHKYINITKLIKTDGIP
 GQPQNVVCRHEDAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYVNKPAKKCLILDKHLTTYHLQNLKP
 YTNYSLSLHAYIIAKVQRNGTAATCNFTTESAPPSQVQNMIVSTSDNSMHVKCEVPRDV
 NGPTGLYHLEVEAGNTLVRNLSQSKCDFSVNNLQYSTYYNLKAYYHNGKYSGEPVILRE
 STSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDL

Resultados

En la Figura 12 se muestran las intensidades medias de fluorescencia (MFI, Geomean) de la unión de injertos IgG1 LALA 17415-17552 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7 (A), 15 (B) y 16 (C) a células HEK humanas que expresan CD45, junto con las moléculas de control pertinentes. En la Figura 13 se muestra la MFI de la unión de injertos 17415-17552 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7 (A), 15 (B) y 16 (C) a células HEK que expresan CD45 de cino, junto con las moléculas de control pertinentes. Cada cadena liviana se apareó con los injertos de cadena pesada H1 y H4 17552. Los injertos 17415-17552 muestran MFI Emax que varían de 4×10^6 - $6,8 \times 10^6$ para la unión a CD45 humano y 10×10^6 - $11,3 \times 10^6$ para la unión a CD45 cino, lo que indica que todos los injertos de anticuerpos biparatópicos unen bien a CD45 humano y cino expresado en células.

Ejemplo 13: Ensayo de reducción de células T humanas usando anticuerpos biparatópicos con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 y 16

Materiales & Métodos - Ensayo de reducción de PBMC

El ensayo de reducción de PBMC humanas empleado fue el mismo que el utilizado en Ejemplos anteriores, pero los

ensayos se realizaron utilizando patrones a 500 nM cada uno de injertos IgG1 LALA 17415-17552 humanizados purificados y anticuerpos de control. En este ensayo se utilizaron PBMC de 3 donantes, UCB-Conos 1001, 1000 y 947.

Resultados:

El porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC tratada con injertos de IgG1 LALA 17415-17552 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7 (A), 15 (B) y 16 (C) se muestran en la Figura 14 junto con las moléculas de control pertinentes. Los datos del Cone 1000 se muestran como representativos de los datos de 3 donantes. Cada cadena liviana se apareó con injertos de cadena pesada H1 y H4 17552. Todos los injertos mostraron reducción de células T con un rango de Emax de 60,2-88,2% y rango de EC50 de 0,02-0,21 nM, de este modo se demuestra el éxito de la reducción celular. El injerto biparatópico que redujo las células T con mayor eficacia fue el IgG1 LALA 17415gL7gH6-17552gL1gH4.

Ejemplo 14: Ensayo de reducción de células Jurkat usando anticuerpos biparatópicos con variantes de injerto de cadena liviana 17415 7, 15 y 16

Introducción

Las células Jurkat se utilizaron de nuevo como modelo para la reducción celular de las células cancerosas a través del direccionamiento a CD45.

Materiales y métodos:

El método realizado fue el descrito en Ejemplos anteriores. Se prepararon patrones de 500 nM de cada injerto IgG1 LALA 17415-17552 humanizado y anticuerpos de control en medio completo como se describe en otros Ejemplos.

Resultados:

El porcentaje de reducción de las células Jurkat tratadas con injertos de IgG1 LALA 17415-17552 humanizados que contienen modificaciones de la cadena liviana 17415 7 (A), 15 (B) y 16 (C) se muestran en la Figura 15 junto con las moléculas de control pertinentes. Cada cadena liviana se apareó con injertos de cadena pesadas H1 y H4 17552. Todos los injertos mostraron reducción de las células Jurkat con un rango de Emax de 83-95,7% y rango de EC50 de 0,14-033 nM. El biparatópico que redujo más eficazmente las células Jurkat fue IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH1.

Ejemplo 15: Ensayos de reducción celular en PBMC de cino

Introducción

El presente Ejemplo describe la metodología para evaluar la capacidad de los anticuerpos CD45 monoespecíficos y biparatópicos para reducir las células de mono cino.

Materiales & Métodos - Ensayo de reducción de células T de cino

Las PBMC de Cynomolgus se adquirieron en Primacyt como alícuotas congeladas. Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de células congeladas, cada uno de los cuales que contiene 2×10^7 células en 1 ml en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 50 ml de medio completo (RPMI 1640 + GlutaMAX 2 mM + Pen/Strep 1%, todo ello suministrado por Invitrogen, + suero fetal bovino 10% (FBS), Sigma Aldrich). Las células se centrifugaron (300 g, 5 min, a RT) y se resuspendieron en 50 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 10 ml de medio completo y luego se contaron usando un ChemoMetec NucleoCounter NC-3000. 1×10^5 células por pocillo en 50µl a continuación se añadieron a cada pocillo de una

microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 07-200-95).

Se prepararon patrones de 500 nM de cada uno de los anticuerpos purificados IgG1 17415, IgG1 17552, IgG1 17415-17552, IgG1 4133-6294 e isotipo IgG1 en medio completo en una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión. Los reactivos se diluyeron en serie en medio completo 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos. Se añadieron 50 µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 250-0,0032 nM) a las células y se incubó durante 24 horas a 37°C, CO₂ 5%. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + 0,1 % NaN₃ + EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron y se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Para la tinción CD3, las células se tiñeron con 20 µl de solución de anticuerpo que contiene anti-Human/NHP CD3 BV605 (BD Biosciences, cat. n° 562994, dilución 1:50) y tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™ (Invitrogen, dilución 1:5000) durante 30 min, 4 °C. Después de la incubación, se centrifugó la placa a 300 g, 5 min, RT, se aspiró el buffer con un lavador de microplacas BioTek ELx405, y las células se resuspendieron en buffer FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1 % (BSA) + NaN₃+0,1 %, EDTA 2 mM, Sigma Aldrich) para lavarlas y, a continuación, se recentrifugaron. Las células se lavaron de nuevo, se aspiró el buffer para dejar las células en 20 µl de medio residual. Las células se analizaron en vivo utilizando el Intellicyt iQue 3. Los recuentos de células vivas se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas mediante Graphpad Prism versión 8,1 8. 1 (Graphpad). Se aplicó un

ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

En la Figura 16 se muestra el porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC chino tratada con 17415-17552 IgG1, 17552 IgG1, 17415 IgG1, 4133-6294 IgG1 e Isotipo IgG1. De los anticuerpos cuyos resultados se muestran en la Figura, solo el biparatópico IgG1 17415-17552 reduce las células T chino a un nivel elevado (Emax 75%, EC50 1,5 nM).

Ejemplo 16: Comparación de la capacidad de 17415-17552 y otros anticuerpos biparatópicos conocidos para destruir células humanas que expresan CD45.

Introducción:

El presente Ejemplo investiga la capacidad del anticuerpo 17415-17552 para destruir células diana que expresan CD45, en comparación con el anticuerpo 4133-6294 descrito en la solicitud internacional N° PCT/EP2021/078516 (publicada como WO 2022/079199 A1) y un formato IgG1 del anticuerpo YTH24.5-YTH54.12. Las secuencias de la región variable (región V) para el anticuerpo anti-CD45 YTH24.5-YTH54.12 se tomaron de la solicitud internacional n° PCT/GB2021/052458 (publicada como WO 2022/064191 A1). Ninguno de estos anticuerpos biparatópicos CD45 se conjugó con agentes citotóxicos.

Ensayo de reducción de PBMC:

El ensayo de reducción de PBMC humanas empleado fue el mismo que el utilizado en Ejemplos anteriores, pero los ensayos se realizaron utilizando patrones de 500 nM cada uno de IgG1 4133-6294, IgG1 17415-17552, IgG1 YTH24.5-YTH54.12 e IgG15604. En este ensayo se utilizaron PBMC de 4 donantes,

UCB-Cone 1001, 1000, 1033 y 947, para comparar IgG1 4133-6294, IgG1 17415-17552 y PBMC de 1 donante, UCB-Cone 924, para comparar IgG1 17415-17552 e IgG1 YTH24.5-YTH54.12.

Ensayo de reducción de Jurkat:

Se realizó el método como se describió en los Ejemplos anteriores. Se prepararon patrones de 500 nM de cada uno de IgG1 4133-6294, IgG1 17415-17552, IgG1 YTH24.5-YTH54.12 e IgG1 5604.

Resultados:

El porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC tratada con IgG1 4133-6294 o IgG1 17415-17552 se muestran en la Figura 17 junto con control de isotipo (IgG 15604). Tanto IgG1 4133-6294 como IgG1 17415-17552 mostraron reducción de las células T. IgG1 4133-6294 tuvo un rango de Emax de 80,7-89,9% y rango de EC50 de 0,17-0,53 nM, e IgG1 17415-17552 tuvo un rango de Emax de 74,4-83,5% y rango de EC50 de 0,08-0,4 nM.

El porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC tratada con IgG1 17415-17552 o IgG1 YTH24.5-YTH54.12 se muestran en la Figura 18 junto con el control de isotipo (IgG 15604) control. Solo IgG1 17415-17552 mostró la reducción de las células T. IgG1 17415-17552 tuvo una Emax de 88,8% y EC50 de 0,05 nM. La Emax y EC50 de IgG1 YTH24.5-YTH54.12 no se pudieron determinar.

El porcentaje de reducción de células Jurkat tratadas con IgG1 4133-6294 o IgG1 17415-17552 se muestran en la Figura 19 junto con el control de isotipo (IgG 15604). Tanto IgG1 4133-6294 como IgG1 17415-17552 mostraron reducción de células Jurkat. IgG1 4133-6294 tuvo una Emax de 91,9% y EC50 de 0,47 nM, e IgG1 17415-17552 tuvo una Emax de 92,7% y rango de EC50 de 0,06 nM.

El porcentaje de reducción de células Jurkat tratadas con IgG1 17415-17552 o IgG1 YTH24.5-YTH54.12 se muestran en la Figura 21 junto con el control de isotipo (IgG 15604) control. Solo, IgG1 17415-17552 mostró reducción de células Jurkat. IgG1 17415-17552 tuvo una Emax de 90,9% y EC50 de 0,05 nM. La Emax y EC50 de IgG1 YTH24.5-YTH54.12 no se pudieron determinar.

Tanto en PBMC como en células Jurkat, la EC50 del anticuerpo IgG1 17415-17552 biparatópico fue inferior en comparación con la EC50 del anticuerpo IgG1 4133-6294 biparatópico. IgG1 YTH24.5-YTH54.12 biparatópico fue incapaz de inducir la muerte de células T o Jurkat.

Conclusión:

En general, estos datos demuestran que los anticuerpos CD45 biparatópicos reivindicados tienen una mayor potencia en comparación con los anticuerpos CD45 biparatópicos conocidos anteriormente..

Ejemplo 17: Liberación de citoquinas en sangre entera a 24 horas medida por el ensayo Meso Scale Discovery (MSD)

Introducción:

El presente Ejemplo investiga la capacidad de los anticuerpos CD45 para inducir la liberación de citoquinas en sangre entera. La liberación de citoquinas puede provocar una inflamación no deseada en los sujetos tratados.

Material & Métodos:

Se recogió sangre entera humana (tubos de heparina de litio) de dos donantes en UCB Pharma Slough, Reino Unido, de acuerdo con el protocolo ético de recolección de muestras aprobado.

En una microplaca Greiner de 96 pocillos no unión, se prepararon patrones de anticuerpos IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4, IgG1 LALA 17415gL15gH6, IgG1 YTH24.5-YTH54.12 e IgG1 LALA 5604 en PBS a 8000 nM. A continuación, los reactivos se diluyeron en serie en PBS 1 en 5, siete veces para producir una curva de dosis de 8 puntos. Campath se diluyó en PBS a para producir un patrón de 200 µg/ml.

Se transfirieron 12,5 µl de la dilución del reactivo a una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (Cat. n° 3799) y se añadieron 237,5 µl de sangre entera a cada pocillo. Las concentraciones finales de los anticuerpos en los pocillos fueron de 400- 0,00512 nM. Como control positivo se utilizó Campath (diluido a partir de un patrón de 10 mg/ml a 0,2 mg/ml en PBS, número de lote CHV0387) a una concentración final de 10 µg/ml. Las placas se sellaron con un sello adhesivo permeable al gas y se volvieron a colocar las tapas de las placas. A continuación, las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C y de CO2 5% humidificado en un lugar sin perturbaciones.

Después de las 24 horas de incubación, las placas se centrifugaron a 1000 g durante 10 minutos y se transfirieron 50 µl de plasma a una placa separada, que se almacenó a -80 °C hasta el análisis de cuantificación de citoquinas.

La medición de citoquinas se llevó a cabo utilizando el Panel proinflamatorio humano I V-PLEX (que incluye interferón (IFN)-γ, interleuquina (IL)-6, factor de necrosis tumoral (TNF)-α, cat n° K15052D, Meso Scale Discovery) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, las muestras de plasma se descongelaron a RT y se diluyeron 1 en 2 con Diluyente 2 (Cat. n° R51BB-3, Meso Scale Discovery). El calibrador de la curva estándar se preparó utilizando 500 µl de Diluyente 2 (Cat. n° R51BB-3, Meso Scale Discovery). Las placas del Panel proinflamatorio I se lavaron

con PBS (suplementado con Tween-20 0,05%) utilizando un lavador de microplacas BioTek ELx405, y se añadieron 50 μ l de muestra o calibrador de curva estándar a cada pocillo. Las placas se sellaron con un sello adhesivo y se incubaron durante 2 horas en un agitador de placas (750 rpm) a RT. Se lavaron las placas como antes y se añadieron 25 μ l de anticuerpo de detección a cada pocillo. Las placas se incubaron durante otras 2 horas en un agitador de placas a RT. Se lavaron las placas como antes y se añadieron 150 μ l de tampón de lectura (diluido 1 en 2 en dH₂O) a cada pocillo. A continuación se analizaron las placas en un SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery).

Resultados:

Los niveles de citoquinas inflamatorias detectados se muestran en la Figura 20 (A) IFN- γ , (B) IL-6 y (C) TNF- α . Significativamente, se observó poca o ninguna inducción de citoquinas inflamatorias por IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 y 17415gL15gH6 con los niveles coincidentes con los de los pocillos tratados con PBS e IgG1 LALA 5604.

Conclusiones:

En general, estos datos muestran que los anticuerpos reivindicados inducen la muerte celular sin inducir un aumento significativo de la liberación de citoquinas. La ausencia de citoquinas reduce la probabilidad de una inflamación indeseada inducida por citoquinas en los sujetos tratados.

Ejemplo 18: Ensayo de reducción en líneas de células T leucémicas y líneas de células B leucémicas

Introducción:

El presente Ejemplo investiga la capacidad de los anticuerpos CD45 reivindicados para reducir las células inmunitarias de diferentes líneas celulares leucémicas.

Materiales & Métodos - Mostraron reducción de líneas celulares:

Antes de realizar un ensayo, se descongeló 1 vial de uno de (a) líneas de células T leucémicas (SUDHL1, SUPT11 y Peers), y (b) líneas de células B leucémicas (DOHH2 y Ramos) en un baño de agua a 37 °C y se añadió a 5 ml de medio completo (RPMI 1640, Corning, + suero fetal bovino 20% (FBS), Gibco, para Ramos, DOHH2 y SUDHL1; RPMI 1640 + FBS 10% para SUPT11 y Peers) para el cultivo. Para el ensayo de reducción, Las células se centrifugaron (200 g, 5 min, a RT) y se resuspendieron en 5 ml de medio completo para lavarlas y centrifugarlas de nuevo. Las células se resuspendieron en 5 ml de medio completo y se contaron utilizando un contador de células automático Biorad TC20TM. 1×10^5 células en 90µl medio completo a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 3879).

Se prepararon patrones de 2 µM de IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4, IgG1 LALA 17415gL15gH6 purificados y control de isotipo IgG1 LALA (5604) en medio completo en una microplaca Sarstedt de 96 pocillos (cat. n° 83,3924,005). Los anticuerpos se diluyeron en serie 1 en 3,16 en medio completo, nueve veces para producir una curva de dosis de 10 puntos. Se añadieron 10 µl de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 200-0,002nM) a las células y se incubaron durante 2 horas a 37 °C, CO2 5% . Después de la incubación, se añadieron 150 µl de PBS a cada pocillo, se centrifugó la placa a 400 g, 5 min, RT, se descartó el sobrenadante mediante la inversión de la placa y se secó en papel de seda. Las células se resuspendieron en 150 µl de

PBS, se volvió a centrifugar la placa y se descartó el sobrenadante. Para la tinción de viabilidad, las células se tiñeron con 50 µl de solución que contiene Tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™ (Invitrogen, dilución 1:1000) durante 30 min, a 4 °C. Después de la incubación, se añadieron 150 µl de tampón FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1% (BSA), Fisher BioReagents) a cada pocillo, se centrifugó la placa a 400 g, 5 min, RT, y se descartó el sobrenadante. Las células se lavaron una vez más con tampón FACS y se resuspendieron en 150 µl de solución de lisis FACS (BD Biosciences, cat. n° 349202). Para el análisis citométrico de flujo, se adquirió un volumen de 100 µl/pocillo en el citómetro de flujo Attune NxT (Invitrogen). Los recuentos de células vivas individuales se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas utilizando Graphpad Prism versión 9,0 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

El porcentaje de reducción de células T Peers, SUPT11, y SUDHL1 tratadas con IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 e IgG1 LALA 17415gL15gH6 se muestran en las Figuras 22A, 22B y 22C respectivamente, junto con el control de isotipo control (IgG 15604 LALA). El porcentaje de reducción de células B Ramos y DOHH2 tratadas con IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 e IgG1 LALA 17415gL15gH6 se muestran en las Figuras 23A, y 23B respectivamente, junto con el control de isotipo control (IgG 15604 LALA).

De las líneas celulares ensayadas, el anticuerpo monoespecífico IgG1 LALA 17415gL15gH6 mostró una marcada reducción de ciertas líneas de células T (Peers y SUPT11) y de cierta línea de células B (Ramos) en comparación con el

control. El rango de Emax fue de 28,4-66,8% y el rango de EC50 de 0,45-18,58nM.

El anticuerpo biparatópico IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 mostró una marcada reducción de en todas las líneas de células T y células B probadas (Peers, SUPT11, SUDHL1, Ramos y DOHH2) en comparación con el control. El rango de Emax fue de 29,3-85,7% y el rango de EC50 de 0,03-0,30nM.

Conclusión:

Estos datos demuestran la capacidad tanto de los brazos de destrucción monoespecíficos como de los anticuerpos biparatópicos para reducir con éxito las líneas de células T y B, y los anticuerpos biparatópicos muestran una mayor potencia y eficacia en comparación con los brazos de destrucción monoespecíficos.

Ejemplo 19: Reducción celular de PBMC derivados de pacientes sanos y leucémicos

Introducción:

El presente ejemplo investiga la capacidad de los anticuerpos CD45 para reducir las células inmunitarias en sujetos sanos y enfermos.

Materiales & Métodos - Ensayo de reducción de PBMC:

Se recogieron muestras de sangre de voluntarios sanos (Universidad de Leicester) y de pacientes con leucemia de células T/B (Hospital Real de Leicester) para aislar PBMC humanas utilizando un gradiente de densidad Lymphoprep (StemCell). Las PBMC se resuspendieron en 10 ml de medio completo (RPMI 1640, Corning, + suero fetal bovino 10% (FBS) + GlutaMAX 2 mM, ambos suministrados por Gibco, + Pen/Strep 1%, Fisher, Beta-mercaptoetanol (BME) 0,004 ul/ml (Sigma) y

se contaron utilizando un contador celular automatizado Biorad TC20TM. A continuación, se añadieron 1×10^5 células por pocillo en 90 μ l media a continuación se añadieron a cada pocillo de una microplaca Corning Costar de 96 pocillos, tratada para cultivo celular, con fondo en forma de U (cat. n° 3879). En este ensayo se utilizaron PBMC de 8 donantes, 6 voluntarios sanos (330CD, 334ES, 335AC, 336BB, 365DS, 370EE), 1 paciente con leucemia de células T (4386POS, síndrome de Sézary) y 1 paciente con leucemia de células B (4650ADG, linfoma de células del manto).

Se prepararon patrones de 2 μ M de IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4, IgG1 LALA 17415gL15gH6 purificados y control de isotipo IgG1 LALA (5604) en medio completo en una placa Sarstedt de 96 pocillos (cat. n° 83,3924,005). Los reactivos se diluyeron en serie 1 en 3,16 en medio completo, diez veces para producir una curva de dosis de 11 puntos. Se añadieron 10 μ l de cada dilución (concentraciones finales en el pocillo 200-0,002 nM) a las células y se incubó durante 22 horas a 37°C, CO₂ 5%. Después de la incubación, se añadieron 150 μ l de PBS a cada pocillo, se centrifugó la placa a 400 g, 5 min, RT, se descartó el sobrenadante mediante la inversión de la placa y se secó en papel de seda. Las células se resuspendieron en 150 μ l de PBS, se volvió a centrifugar la placa y se descartó el sobrenadante. Para la tinción de viabilidad, las células se tiñeron con 50 μ l de solución que contiene Tinción de células muertas IR cercano fijable LIVE/DEAD™ (Invitrogen, dilución 1:1000) durante 30 min, a 4 °C. Después de la incubación, se añadieron 150 μ l de tampón FACS (PBS + albúmina de suero bovino (BSA) 1% (BSA), Fisher BioReagents) a cada pocillo, se centrifugó la placa a 400 g, 5 min, RT, y se descartó el sobrenadante. Las células se lavaron una vez más con tampón FACS y se descartó el sobrenadante. Para la tinción de marcadores extracelulares, las células se tiñeron con 50 μ l de una

solución de anticuerpos que contiene anti-CD16 humano BV480 (BD Biosciences, cat n° 566171, dilución 1:100), CD19 Alexafluor 700 (BD Biosciences, cat n° 557921, dilución 1:200), CD3 Alexafluor 594 (Biolegend, cat n° 300446, dilución 1:250), CD4 PerCP Cy5,5 (Biolegend, cat no. 300530, dilución 1:100), CD8 APC Cy7 (Biolegend, cat no. 301016, dilución 1:400), HLA-DR PECy7 (Thermofisher, 25-9956-42, dilución 1:200), CD56 APC (Biolegend, 318310, dilución 1:50) durante 30 min, 4°C. Después de la incubación, se añadieron 150µl de tampón FACS a cada pocillo, se centrifugó la placa a 400 g, 5 min, RT, y se descartó el sobrenadante. Las células se lavaron una vez más con tampón FACS y se resuspendieron en 150 µl de solución de lisis FACS (BD Biosciences, n° de catálogo 349202). Para el análisis citométrico de flujo, se adquirió un volumen de 100 µl/pocillo en el citómetro de flujo Attune NxT (Invitrogen). Los recuentos de células vivas individuales para cada población de leucocitos se extrajeron como métricas y se generaron representaciones gráficas utilizando Graphpad Prism versión 9,0 (Graphpad). Se aplicó un ajuste de curvas asimétrico (4 parámetros) para obtener los valores EC50 y Emax.

Resultados:

Ensayo de reducción de PBMC

El porcentaje de reducción de células T en una población de PBMC derivadas de voluntarios sanos (A) y un paciente con leucemia de células T (B) tratado con IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 e IgG1 LALA 17415gL15gH6 se muestran en la Figura 24 junto con el control de isotipo control (IgG 15604 LALA). El porcentaje de reducción de células B en una población de PBMC derivadas de voluntarios sanos (A) y un paciente con leucemia de células B (B) tratado con IgG1 LALA 17415gL15gH6-

17552gL1gH4 e IgG1 LALA 17415gL15gH6 se muestran en la Figura 25 junto con el control de isotipo control (IgG 15604 LALA). Los datos de los donantes sanos 336BB y 330CD se muestran como datos representativos de 6 donantes sanos.

Tanto IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 como IgG1 LALA 17415gL15gH6 mostraron una reducción de células T en voluntarios sanos, con un rango de Emax de 74,2-96,7% y un rango de EC50 de 0,05-8,94nM. Tanto IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 como IgG1 LALA 17415gL15gH6 mostraron una capacidad similar para reducir las células T en un paciente con leucemia de células T (4368POS), con un rango de Emax de 74,2-97% y un rango de EC50 de 0,03-8,94nM. Aunque el anticuerpo biparatópico (IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4) redujo las células T en sujetos sanos y enfermos con mayor eficacia que el anticuerpo monoespecífico (IgG1 LALA 17415gL15gH6), la reducción de células T obtenida con el anticuerpo monoespecífico (IgG1 LALA 17415gL15gH6) siguió siendo significativa en comparación con el control.

Tanto IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 como IgG1 LALA 17415gL15gH6 mostraron una reducción de células B en voluntarios sanos, con un rango de Emax de 36,5-80,2% y rango de EC50 de 0,57-3,1nM. Tanto IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4 como IgG1 LALA 17415gL15gH6 mostraron una capacidad similar para reducir las células B en un paciente con leucemia de células B (4650ADG), con un rango de Emax de 71,2-79% y rango de EC50 0,11-0,84 nM. Se observó una tendencia similar en la reducción de células B, en el sentido de que, aunque el anticuerpo biparatópico (IgG1 LALA 17415gL15gH6-17552gL1gH4) redujo las células B en sujetos sanos y enfermos con mayor eficacia que el anticuerpo monoespecífico (IgG1 LALA 17415gL15gH6), la reducción de células B obtenida utilizando el monoespecífico (IgG1 LALA 17415gL15gH6) seguía siendo significativa en comparación con el control.

Conclusiones:

Estos datos demuestran el éxito de la reducción de las células diana que expresan CD45 tanto en sujetos sanos como enfermos. Además, demuestra el potencial terapéutico de los anticuerpos monoespecíficos y biparatómicos en diferentes poblaciones de células diana que expresan CD45.

FORMAS DE REALIZACIÓN NUMERADAS

A continuación se enumeran otras formas de realización numeradas de la invención pero no representan en la actualidad reivindicaciones:

1. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de la cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de la cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42; y

(b) una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 46, 52, 53 y 54, una CDR2 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 47, 55, 56, y 57, y una CDR3 que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 48.

2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 1, donde la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de cualquiera de:

SEQ ID NOs: 33, 34, y 35;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 39;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 40;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 41; y

SEQ ID NOs: 33, 34, y 42.

3. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 1 o 2, donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de cualquiera de:

SEQ ID NOs: 46, 47 y 48;

SEQ ID NOs: 52, 55 y 48;

SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y

SEQ ID NOs: 54, 57, y 48.

4. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 3, donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 35 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(iii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 40 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(iv) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 41 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(v) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 42 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48.

5. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 4, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena liviana que tiene el conjunto de CDR de LCDR1, LCDR2, y LCDR3 que comprende respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y para la región variable de la cadena pesada el conjunto de CDR de HCDR1, HCDR2, y HCDR3 que comprende respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 52, 55, y 48.

6. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 5, donde las regiones variables de la cadena liviana y pesada están humanizadas.

7. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 6, donde la región variable de la cadena liviana de (a) está humanizada usando una estructura de IGKV4-1 o IGKV1-9 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, pero opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante, con preferencia donde la secuencia estructural aceptora se deriva de IGKV4-1.

8. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 7, donde la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una secuencia seleccionada de una de las SEQ ID NOs: 11 a 14 y SEQ ID NOs: 3 a 9, con preferencia de una de las SEQ ID NOs: 11 a 14.

9. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 6 a 8, donde la región variable de la cadena pesada de (b) está humanizada usando una estructura IGHV3-72 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, pero opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante.

10. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 9, donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22.

11. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 10, donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de la región variable de la cadena liviana seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 11 a 14 y SEQ ID NOs: 3 a 9 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22, con preferencia donde la región variable de la cadena liviana se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NOs: 11 a 14.

12. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 11, donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende:

(i) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(ii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 14 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 11 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(v) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 12 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(vi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(vii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 14 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(viii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 3 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22;

(ix) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 4 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(x) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 5 y una secuencia de la región

variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 6 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xiii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 8 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xiv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 9 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22.

13. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 12, donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende:

(i) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(ii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 14 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 2.

14. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico

para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de la cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de la cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96; y

(b) una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 102 a 105.

15. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 14, donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 103;

(iii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ

ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 104; o

(iv) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102 105.

16. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 15, donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID

NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 105.

17. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 15 o 16, donde las regiones variables de la cadena liviana y pesada están humanizadas.

18. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 17, donde la región variable de la cadena liviana de (a) está humanizada usando una estructura IGKV1-8 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante.

19. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 15 a 18, donde la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID NOs: 25 y 26.

20. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 15 a 19, donde la región variable de la cadena pesada de (b) está humanizada usando una estructura IGHV4-4 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de secuencia estructural donante.

21. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 15 a 20, donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 29 a 32.

22. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 15 a 21, que comprende una secuencia de la región variable de la cadena liviana seleccionadas de las SEQ ID NOs: 25 y 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 29 a 32.

23. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 22 donde el anticuerpo comprende:

(i) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(ii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32.

(iii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 30; o

(iv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 31; o

(v) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32; o

(vi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(vii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 30; o

(viii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 31.

24. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 23, donde el anticuerpo comprende:

(i) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(ii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32.

25. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 24 donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es monoespecífico para CD45.

26. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 24, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es biparatópico para CD45.

27. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 26, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende un primer dominio variable específico para CD45 definido en cualquiera de 1 a 14 y un segundo dominio variable específico para CD45 como se define en cualquiera de 15 a 24.

28. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 27, que es biparatópico para CD45 y tiene los conjuntos de CDR de una de los siguientes pares de especificidades:

(a) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(b) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(c) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1,

HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(d) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(e) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 117415gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(f) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 117415gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(g) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son

respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(h) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(i) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(j) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(k) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17416gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94,

95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(1) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico; (las CDR para la especificidad 17416gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105).

29. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 28, que es biparatópico para CD45 donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene los pares de las regiones variables de la cadena liviana y pesada para cada especificidad de una de las siguientes:

(a) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(b) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(c) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad

17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(d) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(e) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(f) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(g) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(h) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables

de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(i) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(j) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(k) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(l) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32).

30. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 29, donde una región constante del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo

comprende una modificación o modificaciones para reducir o eliminar la unión a un receptor Fc.

31. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 26, donde la región constante del anticuerpo comprende las modificaciones de la región constante de la cadena pesada 234A y 235A mediante la numeración EU.

32. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 31, donde la región constante es una de las regiones constantes de IgG1 y las modificaciones son una doble mutación LALA de la región constante.

33. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de 31, donde la región constante es una de las regiones constantes de IgG4 y las modificaciones son una doble mutación FALA de la región constante.

34. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de 1 a 33, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de unirse específicamente a CD45 humano y CD45 de mono cynomolgus.

35. Una molécula o moléculas de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo definido en cualquiera de 1 a 35.

36. Un vector o vectores que codifican un anticuerpo definido en cualquiera de 1 a 34 o que comprende una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con 35.

37. Una composición farmacéutica que comprende:

(a) un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34, una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con 35, o a vector o vectores de acuerdo con 36; y

(b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

38. Una composición farmacéutica de acuerdo con 37 para usar en un método de terapia.

39. Una composición farmacéutica de 38 para usar en un método de destrucción o reducción de células que expresan CD45 en un sujeto.

40. Una composición farmacéutica de 38 para usar en un método de tratamiento de un cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

41. Una composición farmacéutica de 38 para usar en un método de tratamiento de una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

42. Una composición farmacéutica para usar en el método de cualquiera de 38 a 41, donde el método además comprende transferir células al sujeto después de la reducción celular.

43. Un método de destrucción o reducción de las células que expresan CD45 en un sujeto, el método que comprende administrar una composición farmacéutica de acuerdo con 37 al sujeto.

44. Un método de 43, donde el método consiste en tratar un cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

45. Un método de 43, donde el método consiste en tratar una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

46. Un método de cualquiera de 43 a 45, donde el método además comprende transferir células al sujeto después de la destrucción o reducción de células.

47. Uso de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34, una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 35 o a vector o vectores de acuerdo con 36 en la fabricación de un medicamento para destruir o reducir células que expresan CD45 en un sujeto.

48. El uso de 47 donde el medicamento es para tratar un cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

49. El uso de 43 donde el medicamento es para tratar una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

50. El uso de cualquiera de 47 a 49, donde el medicamento es para usar en un método que además comprende transferir células al sujeto después de la destrucción o reducción de células.

51. Un método ex vivo de reducción o destrucción de células diana que expresan CD45 en una población de células, tejidos u órganos que comprende poner en contacto dichas células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de 1 a 34.

52. Un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34 para usar en un método de tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) en un sujeto, el método que comprende

(a) poner en contacto ex vivo una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34 para destruir células diana que expresan CD45; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a dicho sujeto.

53. Un método de tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) que comprende:

(a) poner en contacto una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34 para destruir células diana que expresan CD45 ex vivo; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a un sujeto que necesita tal trasplante.

54. Uso de un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) en un método que comprende:

(a) poner en contacto una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de 1 a 34 para destruir células diana que expresan CD45 ex vivo; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a un sujeto que necesita tal trasplante.

FORMAS DE REALIZACIÓN NUMERADAS ADICIONALES

A continuación se enumeran otras realizaciones numeradas de la invención que no representan actualmente las reivindicaciones:

[1] Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de la cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de la cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 34, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 35 y 39 a 42; y

(b) una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 46, 52, 53 y 54, una CDR2 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 47, 55, 56, y 57, y una CDR3 que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 48.

[2] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [1], donde la región variable de la cadena liviana de

(a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de cualquiera de:

SEQ ID NOs: 33, 34, y 35;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 39;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 40;

SEQ ID NOs: 33, 34, y 41; y

SEQ ID NOs: 33, 34, y 42.

[3] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [1] o [2], donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de cualquiera de:

SEQ ID NOs: 46, 47 y 48;

SEQ ID NOs: 52, 55 y 48;

SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y

SEQ ID NOs: 54, 57, y 48.

[4] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [3], donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 35 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(iii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 40 y la región variable de la cadena

pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(iv) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 41 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48; o

(v) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 42 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende la combinación de CDR1, CDR2, y CDR3 seleccionadas de cualquiera de: (aa) SEQ ID NOs: 46, 47 y 48; (bb) SEQ ID NOs: 52, 55 y 48; (cc) SEQ ID NOs: 53, 56 y 48; y (dd) SEQ ID NOs: 54, 57, y 48.

[5] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [4], donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena liviana que tiene el conjunto de CDR de LCDR1, LCDR2, y LCDR3 que comprende respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y para la región variable de la cadena pesada el conjunto de CDR de HCDR1, HCDR2, y HCDR3 que comprende respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs: 52, 55, y 48.

[6] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [5], donde las regiones variables de la cadena liviana y pesada están humanizadas.

[7] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [6], donde la región variable de la cadena liviana de (a) está humanizada usando una estructura de IGKV4-1 o IGKV1-9 como una secuencia aceptora para las regiones

estructurales, pero opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante, con preferencia donde la secuencia estructural aceptora se deriva de IGKV4-1.

[8] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [7], donde la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una secuencia seleccionada de una de las

SEQ ID NOs: 11 a 14 y SEQ ID NOs: 3 a 9, con preferencia de una de las SEQ ID NOs: 11 a 14.

[9] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [6] a [8], donde la región variable de la cadena pesada de (b) está humanizada usando una estructura IGHV3-72 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, pero opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante.

[10] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [9], donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22.

[11] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [10] , donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de la región variable de la cadena liviana seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 11 a 14 y SEQ ID NOs: 3 a 9 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22, con preferencia donde la región variable de la cadena liviana se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NOs: 11 a 14.

[12] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [11], donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende:

(i) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(ii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 14 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 11 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(v) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 12 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(vi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(vii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 14 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(viii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 3 y una secuencia de la

región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22;

(ix) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 4 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(x) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 5 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 6 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xiii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 8 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22; o

(xiv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 9 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 17 a 22.

[13] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [12], donde el al menos un sitio de unión a antígeno comprende:

(i) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(ii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 22; o

(iii) una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 14 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 2.

[14] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [11], donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID 140 o 147 y una cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 141, con preferencia donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID 147.

[15] Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende al menos un dominio variable específico para CD45 que comprende las siguientes regiones variables de la cadena liviana y pesada:

(a) una región variable de la cadena liviana que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96; y

(b) una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 102 a 105.

[16] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [15], donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID

NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 103;

(iii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 104; o

(iv) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102 105.

[17] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [16], donde:

(i) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 102; o

(ii) la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 94, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 95, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 96 y la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una CDR1 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 100, una CDR2 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 101, y una CDR3 que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 105.

[18] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [16] o [17], donde las regiones variables de la cadena liviana y pesada están humanizadas.

[19] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [20] donde la región variable de la cadena liviana de (a) está humanizada usando una estructura IGKV1-8 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de secuencia estructural donante.

[20] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [16] a [19], donde la región variable de la cadena liviana de (a) comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID NOs: 25 y 26.

[21] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [16] a [20], donde la región variable de la cadena pesada de (b) está humanizada usando una estructura IGHV4-4 como una secuencia aceptora para las regiones estructurales, opcionalmente donde uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia estructural aceptora se reemplazan con uno o más residuos correspondientes de la secuencia estructural donante.

[22] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [16] a [21], donde la región variable de la cadena pesada de (b) comprende una secuencia seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 29 a 32.

[23] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [16] a [22], que comprende una secuencia de la región variable de la cadena liviana seleccionadas de las SEQ ID NOs: 25 y 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NOs: 29 a 32.

[24] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [23] donde el anticuerpo comprende:

(i) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(ii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32.

(iii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 30; o

(iv) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 31; o

(v) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32; o

(vi) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(vii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 30; o

(viii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 26 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 31.

[25] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [24], donde el anticuerpo comprende:

(i) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 29; o

(ii) una secuencia de la región variable de la cadena liviana de la SEQ ID NO: 25 y una secuencia de la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 32.

[26] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [15] a [23], donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID 142 y una cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 143.

[27] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [26] donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es monoespecífico para CD45.

[28] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [26], donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es biparatópico para CD45.

[29] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [28], donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende a primer dominio variable específico para CD45 como se define en cualquiera del punto [1] a [14] y un segundo dominio variable específico para CD45 como se define en cualquiera del punto [15] a [25].

[30] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [29], que es biparatópico para CD45 y tiene los conjuntos de CDR de una de los siguientes pares de especificidades:

(a) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(b) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(c) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(d) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(e) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 117415gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(f) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 117415gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(g) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(h) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL7gH6 son respectivamente LCDR1,

LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(i) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(j) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (las CDR para la especificidad 17415gL15gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105); o

(k) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (las CDR para la especificidad 17416gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y 48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH1 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 102); o

(l) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico; (las CDR para la especificidad 17416gL16gH6 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOS: 33, 34, y 39 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos: 52, 55, y

48, con las CDR para la especificidad 17552 gL1gH4 son respectivamente LCDR1, LCDR2, LCDR3 de las SEQ ID NOs: 94, 95, y 96 y HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de respectivamente las SEQ ID Nos:100, 101, y 105).

[31] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [30], que es biparatópico para CD45 donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene los pares de las regiones variables de la cadena liviana y pesada para cada especificidad de una de las siguientes:

(a) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(b) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(c) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(d) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables

de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(e) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(f) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(g) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(h) 17415gL7gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL7gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 9 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH4 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(i) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las

secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(j) 17415gL15gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17415gL15gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 13 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32);

(k) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH1 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 29);

(l) 17415gL16gH6 x 17552gL1gH4 biparatópico (con las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 117415gL16gH6 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 14 y 22 y las regiones variables de la cadena liviana y pesada para la especificidad 17552gL1gH1 que tiene respectivamente las secuencias de las SEQ ID NOs 25 y 32).

[32] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [31], donde una región constante del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una modificación o modificaciones para reducir o eliminar la unión a un receptor Fc.

[33] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [32], donde la región constante del anticuerpo comprende las modificaciones de la región

constante de la cadena pesada 234A y 235A mediante la numeración EU.

[34] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [33], donde la región constante es una de las regiones constantes de IgG1 y las modificaciones son una doble mutación LALA de la región constante.

[35] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del punto [33], donde la región constante es una de las regiones constantes de IgG4 y las modificaciones son una doble mutación FALA de la región constante.

[36] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [33], donde el anticuerpo es un anticuerpo biparatópico que comprende:

(i) una región constante de la cadena pesada que comprende una primera secuencia de la región constante de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 146 y una segunda secuencia de la región constante de la cadena pesada que tiene la secuencia de la SEQ ID NO 148; y

(ii) una secuencia de la región constante de la cadena liviana que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 145.

[37] El anticuerpo de cualquiera del punto [1] a [36], donde el anticuerpo es la VR17415gL15gH6 x VR17552gL1gH4 IgG1 LALA, donde las secuencias de cadena pesada y liviana para la porción VR17415gL15gH6 del biparatópico comprenden las de las SEQ ID NOs: 147 y 141, mientras que las secuencias de cadena pesada y liviana para la porción VR17552gL1gH4 del biparatópico comprenden las de las SEQ ID NOs: 142 y 143.

[38] El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera del punto [1] a [37], donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de unir específicamente CD45 humano y CD45 de mono cynomolgus.

[39] Un anticuerpo monoespecífico específico para CD45 que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia

de la SEQ ID NO: 140 y una cadena liviana que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 141.

[40] Un anticuerpo biparatópico que comprende:

(a) una cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 147 y una cadena liviana que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 141 que da una primera especificidad para CD45; y

(b) una cadena pesada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 142 y una cadena liviana que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 143 que da una primera especificidad para CD45.

[41] Una molécula o moléculas de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

[42] Un vector o vectores que codifican un anticuerpo como se define en cualquiera del punto [1] a [40] o que comprende una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con [41].

[43] Una composición farmacéutica que comprende:

(a) un anticuerpo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40], una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con [41], o un vector o vectores de acuerdo con [42]; y

(b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[44] Una composición farmacéutica de acuerdo con [43] para usar en un método de terapia.

[45] Una composición farmacéutica del punto [44] para usar en un método de destrucción o reducción de células que expresan CD45 en un sujeto.

[46] Una composición farmacéutica del punto [43] para usar en un método de tratamiento de un cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

[47] Una composición farmacéutica del punto [43] para usar en un método de tratamiento de una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

[48] Una composición farmacéutica para usar en el método de cualquiera de [44] a [47], en la presente el método además comprende transferir células al sujeto después de la reducción celular.

[49] Un método de destrucción o reducción de las células que expresan CD45 en un sujeto, el método que comprende administrar una composición farmacéutica de acuerdo con [43] al sujeto.

[50] Un método del punto [49], donde el método consiste en tratar un cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

[51] Un método del punto [49], donde el método consiste en tratar una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

[52] Un método de cualquiera del punto [49] a [51], donde el método además comprende transferir células al sujeto después de la destrucción o reducción de células.

[53] Uso de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40], una molécula o moléculas de ácido nucleico de acuerdo con [41] o un vector o vectores de acuerdo con [42] en la fabricación de un medicamento para destruir o reducir células que expresan CD45 en un sujeto.

[54] El uso del punto [53] donde el medicamento es para tratar a cáncer sanguíneo, por ejemplo leucemia, linfoma o mieloma múltiple.

[55] El uso del punto [53] donde el medicamento es para tratar una enfermedad autoinmune, por ejemplo esclerosis múltiple o esclerodermia.

[56] El uso de cualquiera del punto [53] a [55], donde el medicamento es para usar en un método que además comprende

transferir células al sujeto después de la destrucción o reducción de células.

[57] Un método ex vivo de reducción o destrucción de células diana que expresan CD45 en una población de células, tejidos u órganos que comprende poner en contacto dichas células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40].

[58] Un anticuerpo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40] para usar en un método de tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) en un sujeto, el método que comprende

(a) poner en contacto ex vivo una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40] para destruir células diana que expresan CD45; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a dicho sujeto.

[59] Un método de tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) que comprende:

(a) poner en contacto una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40] para destruir células diana que expresan CD45 ex vivo; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a un sujeto que necesita tal trasplante.

[60] Uso de un anticuerpo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [40] en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) en un método que comprende:

(a) poner en contacto una población de células, tejidos u órganos con un anticuerpo o fragmento de unión al

antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera del punto [1] a [38] para destruir células diana que expresan CD45 ex vivo; y

(b) trasplantar la población tratada de células, tejidos u órganos a un sujeto que necesita tal trasplante.

```

<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Listado de
secuencias 1.3//EN" "ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
dtdVersion="V1_3" fileName="N427511WO Sequence Listing 28-Nov-24.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2024-11-28">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
    <FilingDate></FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>N427511WO</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>GB</IPOfficeCode>

    <ApplicationNumberText>2318820.4</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-12-08</FilingDate>
    </EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <ApplicantName languageCode="en">UCB Biopharma
SRL</ApplicantName>
    <InventionTitle
languageCode="en">ANTICUERPOS</InventionTitle>
    <SequenceTotalQuantity>148</SequenceTotalQuantity>
    <SequenceData sequenceIDNumber="1">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

            <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

            <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
              <INSDQualifier>

                <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q2">

                <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
              </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
          </INSDSeq_feature-table>

          <INSDSeq_sequence>DVVLTQTPASVSEPVGGTVTIKCQASQSIYSNLAWYQQKPGQPPKL
LIYAASNLAGSVSSRFKSGSGTEFTLTISGVQCADAATYYCQCTNYGSGYVNTFGGGTEVVVK</INSD
Seq_sequence>
        </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="2">
        <INSDSeq>
          <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
          <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
                    <INSDFeature_qual>
                        <INSDQualifier>

                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                            <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q4">

                                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        </INSDFeature_qual>
                                        </INSDFeature>
                                        </INSDSeq_feature-table>

                                <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK</INSDSeq
_sequence>
                                    </INSDSeq>
                                </SequenceData>
                                <SequenceData sequenceIDNumber="3">
                                    <INSDSeq>
                                        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
                                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                        <INSDSeq_feature-table>
                                            <INSDFeature>

                                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                                                <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                                                    <INSDFeature_qual>
                                                        <INSDQualifier>

                                                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                                                            <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                                                </INSDQualifier>
                                                                <INSDQualifier id="q6">

                                                                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                                                    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                                                        </INSDQualifier>
                                                                        </INSDFeature_qual>
                                                                        </INSDFeature>
                                                                        </INSDSeq_feature-table>

                                                                <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSIYNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLAGVPSRFRKSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQCTNYGSGYVNTFGGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
                                                                    </INSDSeq>

```

```

    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="4">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q8">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSFLSASVGDRTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
        LIYAASNLAGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQSTNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
        Seq_sequence>
      </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="5">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q10">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

```

```

    <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
    LIYAASNLAGVPSRFRKGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQATNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
    Seq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="6">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q12">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

    <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
    LIYAASNLAGVPSRFRKGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQVTNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
    Seq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="7">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q14">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>DVVLTSQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLAGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="8">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

          <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

          <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

              <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
              <INSDQualifier id="q16">

                <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
              </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
          </INSDSeq_feature-table>

          <INSDSeq_sequence>DVVLTSQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGQAPKL
LIYAASNLAGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQPEDAATYYCQCTNYGSGYVNTFGGGTEVVIK</INSD
Seq_sequence>
            </INSDSeq>
          </SequenceData>
          <SequenceData sequenceIDNumber="9">
            <INSDSeq>
              <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
              <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
              <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
              <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

                  <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                  <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                  <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

                      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q18">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGQAPKL
LIYAASNLASGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQPEDAATYYCQSTNYGSGYVNTFGGGTEVVIK</INSD
Seq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q20">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKP
GQPPKLLIYWASTRESGVPRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGGGTKVEIK</I
NSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q22">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPDLSVSLGERVTINCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLASGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQAEDAATYYCQCTNYGSGYVNTFGGGTEVVIK</INSD
Seq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q24">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLASGVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQAEDVATYYCQCTNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                    <INSDFeature_qual>
                        <INSDQualifier>

                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                            <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q26">

                                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        </INSDFeature_qual>
                                </INSDFeature>
                            </INSDSeq_feature-table>

                            <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPDLSVSLGERVTINCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLAGVPSRFRKGSGSGTEFTLTISSLQAEDAATYYCQSTNYGSGYVNTFGGGTEVVIK</INSD
Seq_sequence>
                                </INSDSeq>
                            </SequenceData>
                            <SequenceData sequenceIDNumber="14">
                                <INSDSeq>
                                    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
                                    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                    <INSDSeq_feature-table>
                                        <INSDFeature>

                                            <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                                            <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                                                <INSDFeature_qual>
                                                    <INSDQualifier>

                                                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                                                        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                                            </INSDQualifier>
                                                            <INSDQualifier id="q28">

                                                                <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                                                <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                                                    </INSDQualifier>
                                                                    </INSDFeature_qual>
                                                            </INSDFeature>
                                                                </INSDSeq_feature-table>

                                                                <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPDLSLAVSLGERATINCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLAGVPSRFRKGSGSGTDFTLTISSLQAEDVATYYCQSTNYGSGYVNTFGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
                                                                    </INSDSeq>

```

```

    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="15">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q30">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>QEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTASGLSFIGNYYICWVRQAPGKGL
EWIGCIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCELDAYTYAFWGPGLTVTS
S</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="16">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q32">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>

```

```

    <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLE
WVGRTRNKANSYTTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARYFDYWGQGTLVTVSS<
/INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="17">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

    <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYICWVRQAPGKGL
EWIGCIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSKTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTLVTV
SS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="18">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q36">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYISWVRQAPGKGL
EWIGSIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSKTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTLLTV
SS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="19">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q38">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYIAWVRQAPGKGL
EWIGAIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSKTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTLLTV
SS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="20">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q40">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYIVWVRQAPGKGL
EWIGVIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSKTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTTLVTV
SS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q42">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYICWVRQAPGKGL
EWIGCIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTTLVTVS
S</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q44">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYISWVRQAPGKGL
EWIGSIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTLLVTVS
S</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="23">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q46">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>ALVMTQTPASVSAAVGGTVTINCQASQSITTALAWYQQKPGQRPKL
LIYRASTLASGVSSRFEGSGSGTQFTLTISGVECDAAATYYCQEYYSSSDVDNTFGGGTEVVVK</INSD
Seq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="24">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
                    <INSDFeature_qual>
                        <INSDQualifier>

                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                            <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q48">

                                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        </INSDFeature_qual>
                                </INSDFeature>
                            </INSDSeq_feature-table>

                            <INSDSeq_sequence>AIRMTQSPSSFSASTGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKVEIK</INSDSeq
_sequence>
                                </INSDSeq>
                            </SequenceData>
                            <SequenceData sequenceIDNumber="25">
                                <INSDSeq>
                                    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
                                    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                    <INSDSeq_feature-table>
                                        <INSDFeature>

                                            <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                                            <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
                                                <INSDFeature_qual>
                                                    <INSDQualifier>

                                                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                                                        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                                            </INSDQualifier>
                                                            <INSDQualifier id="q50">

                                                                <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                                                <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                                                    </INSDQualifier>
                                                                    </INSDFeature_qual>
                                                            </INSDFeature>
                                                                </INSDSeq_feature-table>

                                                                <INSDSeq_sequence>ALVMTQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSITTALAWYQQKPGKAPKL
LIYRASTLASGVPSRFEFGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQEYYSSSDVDNTFGGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
                                                                    </INSDSeq>

```

```

    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="26">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q52">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>ALVMTQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSITTALAWYQQKPGKAPKL
LIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQEYYSSSDVDNTFGGGTKVEIK</INSD
Seq_sequence>
      </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="27">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>121</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q54">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

```

```

    <INSDSeq_sequence>QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSDYYMIWVRQAPGKLEY
    IGAISSYGGSSAYLSWAKGRFTISKSTSTTVDLIMITSPTTEDTATYFCTRGIWGGSGGPWGYFDIWGPGL
    VTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="28">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

          <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

          <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

              <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
              <INSDQualifier id="q56">

            </INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

            <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGL
      EWIGEIYHSGSTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYFDYWGGTGLTVTVSS</I
      NSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="29">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

          <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

          <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

              <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
              <INSDQualifier id="q58">

            </INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVSGFSLSDYYMIWVRQPPGKGLE
YIGAI SYGGSAYYLSWAKGRFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRGIWDGGSGGPWGYPFDIWGQ
GTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="30">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

          <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

          <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
              <INSDQualifier>

                <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                  </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q60">

                  <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                  <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                  </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
              </INSDSeq_feature-table>

            <INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVSGFSLSDYYMIWVRQPPGKGLE
YIGAI SYGGSAYYLSWAKGRFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRGIWEGGSGGPWGYPFDIWGQ
GTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
              </INSDSeq>
            </SequenceData>
            <SequenceData sequenceIDNumber="31">
              <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                  <INSDFeature>

                    <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                    <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
                      <INSDFeature_qual>
                        <INSDQualifier>

                          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q62">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVSGFSLSDYYMIWVRQPPGKGLE
YIGAISYGGSAYYLSWAKGRFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRGIWDSGGGPWGYFDIWGQ
GTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q64">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVSGFSLSDYYMIWVRQPPGKGLE
YIGAISYGGSAYYLSWAKGRFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRGIWDAGSGGPWGYFDIWGQ
GTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q66">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QASQSIYSNLA</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q68">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AASNLAS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q70">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QCTNYGSGYVNT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q72">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RASQGISSYLA</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q74">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AASTLQS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q76">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQLNSYPLT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q78">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QSTNYGSGYVNT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q80">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QATNYGSGYVNT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q82">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QVTNYGSGYVNT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q84">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QQTNYGSGYVNT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q86">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>KSSQSVLYSSNNKNYLA</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q88">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WASTRES</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q90">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQYYSTPLT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q92">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GLSFIGNYYIC</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="47">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q94">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>CIYTGSSGSTYYASWAKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q96">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DAYTYAF</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q98">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GFTTFSDHYMD</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q100">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RTRNKANSYTTEYAASVKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q102">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q104">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GLSFIGNYYIS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q106">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GLSFIGNYYIA</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q108">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GLSFIGNYYIV</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>

```

```

        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q110">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>SIYTGSSGSTYYASWAKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q112">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>AIYTGSSGSTYYASWAKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
    <INSDSeq>

```

```

        <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q114">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>VIYTGSSGSTYYASWAKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q116">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQTPASVSEPVGGTVTIKC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">

```

```

        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q118">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGQPPKLLIY</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="60">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q120">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVSSRFKGS GSGTEFTLTISGVQCADAATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
        </INSDSeq>

```

```

    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="61">
      <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
          <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q122">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTEVVVK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="62">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q124">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```

        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="63">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q126">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPKLLIY</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="64">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q128">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

```

```

    <INSDSeq_sequence>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="65">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q130">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="66">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q132">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

```

```

        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSFLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q134">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSSLASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q136">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</INSDSeq>

```

```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLTQSPSSLASVGDRTITC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q138">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGQAPKLLIY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q140">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

```

```

        </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFGKSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q142">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFGKSGSGTEFTLTISLQPEDAATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q144">

```

```

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTEVVIK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q146">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>

```

```

<INSDQualifier id="q148">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGQPPKLLIY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q150">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q152">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q154">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLQSPDSLVS LGERTINC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

```

```

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q156">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DVVLQSPDSLAVSLGERATINC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
</INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q158">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFGKSGSGTEFTLTISSLQAEDAATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>

```

```

                                <INSDFeature_qual>
                                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q160">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_qual>
                                </INSDFeature>
                                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFKSGSGTDFTLTISSLQAEDVATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
                                </INSDSeq>
                                </SequenceData>
                                <SequenceData sequenceIDNumber="81">
                                    <INSDSeq>
                                        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
                                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                        <INSDSeq_feature-table>
                                            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_qual>
                                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q162">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_qual>
                                </INSDFeature>
                                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTEVVIK</INSDSeq_sequence>
                                </INSDSeq>
                                </SequenceData>
                                <SequenceData sequenceIDNumber="82">
                                    <INSDSeq>
                                        <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
                                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                        <INSDSeq_feature-table>
                                            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q164">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QEQLVESGGGLVQPEGSLTLTCTAS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q166">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQAPGKGLEWIG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>31</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..31</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q168">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISKTSSTTVTLQLNSLTAADTATYFCEL</INSDSeq_seque
nce>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="85">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q170">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WGPGLTVTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="86">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q172">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q174">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQAPGKGLEWVG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q176">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR</INSDSeq_sequ
ence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="89">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q178">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="90">
        <INSDSeq>

```

```

        <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q180">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q182">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQAPGKGLEWIG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">

```

```

        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q184">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISKDSSKTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCEL</INSDSeq_sequ
ence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="93">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>31</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..31</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q186">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISKDSSTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCEL</INSDSeq_seque
nce>

```

```

        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="94">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q188">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
            </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QASQSITTALA</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="95">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q190">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
            </INSDSeq_feature-table>
            <INSDSeq_sequence>RASTLAS</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>

```

```

        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="96">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q192">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
            </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QEYYSSSDVDNT</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="97">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q194">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
            </INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDSeq_sequence>RASQGISSYLA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q196">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AASTLQS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q198">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>

```

```

        <INSDSeq_sequence>QQYYSYPLT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="100">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q200">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GFSLSDYYMI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q202">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDSeq_sequence>AISYGG SAYYLSWAKG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q204">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GIWDGSGGPWGYFDI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q309">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>

```

```

        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GIWEGSGGPGWGYFDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q310">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                        </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_qual>
                        </INSDFeature>
                    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GIWDSGSGGPGWGYFDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="105">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q311">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                        </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_qual>

```

```

        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GIWDAGSGGPWGYFDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q312">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ALVMTQTPASVSAAVGGTVTINC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="107">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q313">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>

```

```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGQRPKLLIY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="108">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q314">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                        </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_qual>
                        </INSDFeature>
                    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVSSRFEGSGSGTQFTLTISGVECDAAATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="109">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                        </INSDQualifier>
                        <INSDQualifier id="q315">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTEVVVK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="110">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q316">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>AIRMTQSPSSFSASTGDRVTIT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="111">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q317">

```

```

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPKLLIY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="112">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q318">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFSGSGGTDFLTISCLQSEDFATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="113">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>

```

```

        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q319">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>FGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="114">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q320">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ALVMTQSPSSFSASTGDRVITITC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="115">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q321">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GVPSRFEGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYC</INSDSeq_sequ
ence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="116">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q322">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQAPGKGLLEYIG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="117">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

```

```

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q323">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISKSTTTVDLMITSPTTEDTATYFCTR</INSDSeq_sequen
ce>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="118">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q324">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WGPGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="119">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>

```

```

        <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q325">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCAVS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="120">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q326">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQPPGKGLEWIG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="121">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q327">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="122">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q328">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WQGGLVTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="123">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q329">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="124">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q330">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WVRQPPGKGLYIG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="125">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>

```

```

        <INSDFeature>

        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q331">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTR</INSDSeq_sequ
ence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="126">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q332">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>WGQGTTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="127">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>1304</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```

        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..1304</INSDFeature_location>
                    <INSDFeature_qual>
                        <INSDQualifier>

                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                            <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q333">

                                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                                    <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        </INSDFeature_qual>
                                        </INSDFeature>
                                </INSDSeq_feature-table>

                                <INSDSeq_sequence>MYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSD
                                PLPHTTAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNDASAFNTTGVSSVQTPHLPHTHADSQTP
                                SAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTSLAHSSAALPARTSNTT
                                ITANTSDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENV
                                ECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCQVEKADTTICLKWKNI
                                ETFTCDTQNITYRFQCGNMI FDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKI IKTDFGSPGEPQII
                                FCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQ
                                RNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMSTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCD
                                FRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKR
                                SCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRFLAEFQSI PRVFSKFPIKEARKPFNQ
                                NKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFEKPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVI
                                VMVTRCEEGRNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTS
                                WPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVHCSAGVGRTGTYYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKL
                                RRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSLHPYLHNMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWR
                                TQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHSDDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWK
                                PEVMIAAQGPLKETIGDFWQMI FQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDSDKSST
                                YTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIH
                                CRDGSQQTGIFCALLNLESAAETEEVVDIFQVVKALKRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKK
                                NNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS</
                                INSDSeq_sequence>
                                    </INSDSeq>
                                </SequenceData>
                                <SequenceData sequenceIDNumber="128">
                                    <INSDSeq>
                                        <INSDSeq_length>262</INSDSeq_length>
                                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                                        <INSDSeq_feature-table>
                                            <INSDFeature>

                                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                                                <INSDFeature_location>1..262</INSDFeature_location>
                                                    <INSDFeature_qual>
                                                        <INSDQualifier>

                                                            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q334">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DAVVTQESALTSSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYASWVQEKPDHLF
TGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCVLWYSDHWVFGCGTKLTVLGGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGSDVQLQQSGPGLVAPSQSL SITCTVSGFLLTDYGVNWVRQSPGKCLEWLGVWGDGI
TDYNSALKSRLSVTKDNSKSQVFLKMNSLQSGDSARYYCVTGLFDYWGQGTTLTVSSAAAHHHHHHEQKL
ISEEDL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="129">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1196</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1196</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteina</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q335">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>MTMCLWLKLLAFVFAFLDTEVFVTGQGSTPSPTGVSSALTPHLPTH
ADSQTPSTGTDQTTPSGSAANTLSPTPRSNDISVSYLNASETTTPSPSGSTVISTPTIATTTSKPTCAE
KYATIPVDYLYNNKTKLFTAKLNVNENVECTNNNNHTHNICTNNEVLNLPECKEMNVFVSHNSCTDRHKEL
KLDVPPEVEKFQLDDCTPDVEANTTICLKWKI IETFACDKSKITYRFQCGNKTYNKEGIYLENLEPEY EY
KCDSEILYNNHKYINITKLIKTDGFIGPQPQNVVCRHEDAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYVSKTAKKCL
SLDKHLTTYHLQNLKPYTNYSLSLHAYIIAKVQRNGTAATCNFTTESAPPSQVQNMIVSTSDNSMRVKCE
APRDVNGPTELYLLEVEAGNTLVRNLSQSECDFSVNNLQYSTYYNLKAYYHNGKYSGEPIVILRESTSYNS
KALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNV EPIHADILLETYKRKI
ADEGRFLAEFQSI PRVFSKFP IKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGF
KEPRKYIAAQGPRDETVD DFWRM IWEQKATVIVMTRCEEGNRNKA EYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQH
KRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVHCSAG
VGRGTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSLH
PYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRQTQHTGNQEENKNKNRNSNVI PYDYNRVPLKHELEMSKE

```

```

SDHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKH
GDQEICAQYWGEKQTYGDI EVD MKDTNKSSTYTLRVFELRH SKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKE
LVSLIQVLKEKLPQKNSSEG NKHKHSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRK
ARPGMVSTFEQYQFLYDIIASTYPAQNGQVKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGATEKLPEAKE
QATGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="130">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q336">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GIDLSNYAIN</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="131">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q337">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>

```

```

                                </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_qual>
                                </INSDFeature>
                                </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IIWASGTTFYATWAKG</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="132">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q338">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>TVPGYSTAPYFDL</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="133">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q339">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>QSSPSVWSNFLS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="134">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q340">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EASKLTS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="135">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q341">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GGGYSSISDTT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="136">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>443</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..443</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q342">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTTLS
PSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECK
NASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNM
IFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIIFCRSEAAHQGVITWNPPQR
SFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQ
VWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFH
NGDYPGEPFILHSTSYNSKALIAFLAFLIIIVTSIALLVVLYKIYDL</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="137">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>447</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..447</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

```

```

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q343">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>MTMCLWLKLLAFVFAFLDTEVFVTGQGSTLSPTVSYLNASETTPS
PSGSTVISTPTIATTTSKPTCAEKYATIPVDYLYNNKTKLFTAKLNVNENVECTNNNHTHNICTNNEVLN
LPECKEMNVFVSHNSCTDRHKELKLDVPPEVEKFQLDDCTPDVEANTTICLKWKI IETFACDKSKITYRF
QCGNKTYNKEGIYLENLEPEYKYKCDSEILYNNHKYINITKLIKTDGIPGQPQNVVCRHEDAHQGVITW
NPPQRSFHNFTLCYVKNKPAKKCLILDKHLTTYHLQNLKPYTNYSLSLHAYIIAKVQRNGTAATCNFTTES
APPSQVQNMIVSTSDNSMHVKCEVPRDVNGPTGLYHLEVEAGNTLVRNLSQSKCDFSVNNLQYSTYYNLK
AYYHNGKYSGEPVILRESTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="138">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q344">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GGSISSSNWWS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="139">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q345">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EIYHSGSTNYNPSLKS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="140">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>447</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..447</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q346">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYISWVRQAPGKGL
EWIGSIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSTSVYLQMNSLKTEDTAVYYCELDAYYAFWGQGLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="141">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q347">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>

  <INSDSeq_sequence>DVVLTQSPDLSVSLGERVTINCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLASGVPSRFKSGSGTEFTLTISSLQAEDAATYYCQSTNYGSGYVNTFGGGTEVVIKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="142">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>454</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q348">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```

        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPSGTLSTCTVSGFSLSDYYMIWVRQPPGKGLE
        YIGAI SYGGSAYYLSWAKGRFTISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTRGIWDAGSGGPWG YFDIWGQ
        GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
        YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD
        TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
        KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
        NYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_se
        quence>

        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="143">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

                    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

                    <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q349">

                    <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

                    <INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
            </INSDSeq_feature-table>

            <INSDSeq_sequence>ALVMTQSPSSFSASTGDRVITITCQASQSITTALAWYQQKPGKAPKL
            LIYRASTLASGVPSRFEGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQEEYSSSDVDNTFGGGTKVEIKRTVAAP
            SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSK
            ADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
    </SequenceData>
    <SequenceData sequenceIDNumber="144">
        <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                <INSDFeature>

                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

                <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>

                    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q350">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPE
AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPFVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="145">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier_id="q351">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNFFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq
_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="146">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

```

```

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q352">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

    <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
AAGGPSVFPLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="147">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>447</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..447</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q354">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

    <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGLSFIGNYYISWVRQAPGKGL
EWIGSIYTGSSGSTYYASWAKGRFTISKDSSTSVYLQMNLSKTEDTAVYYCELDAYTYAFWGQGTLLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFPLFPPKPKDTLMISRT

```

```

PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="148">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
            <INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
                <INSDQualifier id="q357">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>constructo sintético</INSDQualifier_value>
                </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>

    <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
AAGGPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

```