(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 808 853**

(51) Int. CI.:

C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.11.2015 PCT/EP2015/076745**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2016 WO16079081**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2015 E 15797972 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3221357**

(54) Título: **Cadenas ligeras comunes y procedimientos de uso**

(30) Prioridad:

20.11.2014 EP 14194097

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.03.2021

(73) Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

(72) Inventor/es:

KLEIN, CHRISTIAN;
MOESSNER, EKKEHARD;
HOSSE, RALF;
BRUENKER, PETER;
UMANA, PABLO y
JAEGER, CHRISTIANE

(74) Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Cadenas ligeras comunes y procedimientos de uso

Listado de secuencias

La solicitud instantánea contiene un listado de secuencias que se ha enviado electrónicamente en formato ASCII. Dicha copia ASCII, creada el 10 de noviembre de 2015, se denomina 32398_SL.txt y tiene un tamaño de 537.667 bytes.

Campo de la invención

La presente invención en general se refiere a moléculas de unión a antígeno biespecíficas para activar linfocitos T. Además, la presente invención se refiere a polinucleótidos que codifican dichas moléculas de unión a antígeno biespecíficas, y vectores y células huésped que comprenden dichos polinucleótidos. La invención se refiere además a procedimientos para producir las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la invención, y a procedimientos de uso de estas moléculas de unión a antígeno biespecíficas en el tratamiento de enfermedad.

Antecedentes

La destrucción selectiva de una célula individual o un tipo de célula específico a menudo es deseable en una variedad de entornos clínicos. Por ejemplo, un objetivo principal del tratamiento del cáncer es destruir específicamente las células tumorales, dejando las células y tejidos sanos intactos y sin daños.

Una forma atractiva de lograr esto es induciendo una respuesta inmunitaria contra el tumor, para hacer que las células efectoras inmunitarias tales como los linfocitos citolíticos naturales (NK) o los linfocitos T citotóxicos (CTL) ataquen y destruyan las células tumorales. Los CTL constituyen las células efectoras más potentes del sistema inmunitario; sin embargo, no se pueden activar por el mecanismo efector mediado por el dominio Fc de anticuerpos terapéuticos convencionales.

A este respecto, los anticuerpos biespecíficos diseñados para unirse con un "brazo" a un antígeno de superficie en células diana, y con el segundo "brazo" a un componente invariante activador del complejo receptor de linfocitos T (TCR), se han vuelto de interés en los últimos años. La unión simultánea de un anticuerpo de este tipo a sus dos dianas fuerza una interacción temporal entre la célula diana y el linfocito T, provocando la activación de cualquier linfocito T citotóxico y la posterior lisis de la célula diana. Por tanto, la respuesta inmunitaria se redirige a las células diana y es independiente de la presentación antigénica de péptidos por la célula diana o la especificidad del linfocito T como sería pertinente para la activación restringida para MHC normal de CTL. En este contexto, es crucial que los CTL solo se activen cuando el anticuerpo biespecífico se une a una célula diana y al CTL, es decir, se imita la sinapsis inmunológica. Son en particular deseables los anticuerpos biespecíficos que no requieren preacondicionamiento o coestimulación de linfocitos para provocar lisis eficaz de células diana.

Se han desarrollado varios formatos de anticuerpos biespecíficos e investigado su idoneidad para inmunoterapia mediada por linfocitos T. De estos, las denominadas moléculas BiTE (captadoras de linfocitos T biespecíficos) se han caracterizado muy bien y ya se han mostrado prometedoras en el ámbito clínico (revisado en Nagorsen y Bäuerle, Exp Cell Res 317, 1255-1260 (2011)). Las BiTE son moléculas scFv en tándem en las que dos moléculas scFv se fusionan por un conector flexible. Otros formatos biespecíficos que se evalúan para el acoplamiento de linfocitos T incluyen diacuerpos (Holliger *et al*., Prot Eng 9, 299-305 (1996)) y derivados de los mismos, tales como diacuerpos en tándem (Kipriyanov *et al*., J Mol Biol 293, 41-66 (1999)). Un desarrollo más reciente son las moléculas denominadas DART (redirección de afinidad doble), que se basan en el formato de diacuerpos pero presentan un puente disulfuro C terminal para estabilización adicional (Moore *et al*., Blood 117, 4542-51 (2011)). Los denominados triomab, que son moléculas de IgG completas híbridas de ratón/rata y que también se están evaluando actualmente en ensayos clínicos, representan un formato de tamaño más grande (revisado en Seimetz *et al*., Cancer Treat Rev 36, 458-467 (2010)).

La variedad de formatos que se están desarrollando muestra el gran potencial atribuido al redireccionamiento y activación de linfocitos T en inmunoterapia. Sin embargo, la tarea de generar anticuerpos biespecíficos adecuados para esto no es de ninguna manera trivial, sino que implica varios retos que se han de cumplir relacionados con eficacia, toxicidad, aplicabilidad y producibilidad de los anticuerpos.

Las construcciones pequeñas tales como, por ejemplo, las moléculas BiTE (aunque pueden reticular eficazmente células diana y efectoras) tienen una semivida en suero muy corta, lo que requiere que se administren a los pacientes por infusión continua. Por otra parte, los formatos de tipo IgG (aunque tienen el gran beneficio de una semivida larga) experimentan toxicidad asociada con las funciones efectoras naturales inherentes de las moléculas de IgG. Su potencial inmunogénico constituye otro rasgo característico desfavorable de los anticuerpos biespecíficos de tipo IgG, especialmente los formatos no humanos, para un desarrollo terapéutico exitoso. Finalmente, un reto principal en el desarrollo general de anticuerpos biespecíficos ha sido la producción de construcciones de anticuerpos biespecíficos en una cantidad y pureza clínicamente suficientes, debido al emparejamiento incorrecto de las cadenas pesada y

ligera del anticuerpo de especificidades diferentes tras la coexpresión, lo que disminuye el rendimiento de la construcción correctamente ensamblada y da como resultado varios productos secundarios no funcionales de los que puede ser difícil separar el anticuerpo biespecífico deseado.

Jackman *et al*. (JBC 285 (2010), 20850-20859) describen el desarrollo de una estrategia de dos partes para identificar un anticuerpo biespecífico humano terapéutico que inhibe la señalización del receptor de IgE. El documento US 2013/045492 A1 describe un ratón de cadena ligera común. El documento WO 98/50431 A2 describe un procedimiento para preparar anticuerpos multiespecíficos que tienen componentes heteromultiméricos y comunes. El documento WO 2014/151910 A1 describe anticuerpos biespecíficos heterodiméricos. Mezzanzanica *et al*. (Int J Cancer 41 (1988), 609-615) describen la lisis del carcinoma de ovario humano por linfocitos T citotóxicos dirigida por anticuerpos monoclonales biespecíficos.

Dadas las dificultades y desventajas asociadas con los anticuerpos biespecíficos actualmente disponibles para la inmunoterapia mediada por linfocitos T, sigue existiendo la necesidad de obtener formatos mejorados novedosos de dichas moléculas.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un primer y un segundo resto de unión a antígeno, en la que el primer resto de unión a antígeno comprende una primera cadena ligera y en la que el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, en la que el antígeno activador de linfocitos T es CD3, y el segundo resto de unión a antígeno comprende una segunda cadena ligera y en la que el segundo resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, en el que el antígeno de célula diana es el receptor 1 de folato (FolR1), en la que la secuencia de aminoácidos de la primera y la segunda cadena ligera es idéntica, en la que la primera y la segunda cadena ligera comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, en la que el primer resto de unión a antígeno es un Fab y el segundo resto de unión a antígeno es un Fab.

En un aspecto, se proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un primer y un segundo resto de unión a antígeno, uno de los cuales es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T y el otro de los cuales es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, en la que la primera y la segunda molécula Fab tienen cadenas ligeras VLCL idénticas.

En un modo de realización, dicha molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende además un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad que se pueden asociar de manera estable.

En un modo de realización, dicha molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 31.

En un modo de realización, dicha molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T comprende una cadena pesada que comprende las CDR de la cadena pesada de SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 39.

En un modo de realización particular, no más de un resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T está presente en la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T (es decir, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T proporciona unión monovalente al antígeno activador de linfocitos T).

En algunos modos de realización, el primer y el segundo resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusionan entre sí, opcionalmente por medio de un conector peptídico. En un modo de realización de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno. En otro modo de realización de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno. Aún en otro modo de realización de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena ligera de Fab al extremo N de la cadena ligera de Fab del primer resto de unión a antígeno.

Aún en otro modo de realización de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena ligera de Fab al extremo N de la cadena ligera de Fab del segundo resto de unión a antígeno. En un modo de realización, el primer resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización, el segundo resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc.

En otro modo de realización, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización, el primer y el segundo resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc.

En determinados modos de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende un tercer resto de unión a antígeno que es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana. En un modo de realización, dicho tercer resto de unión a antígeno es una molécula Fab que comprende una cadena ligera VLCL idéntica al primer y segundo resto de unión a antígeno.

En un modo de realización de este tipo, el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son cada uno una molécula Fab que comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34.

En un modo de realización de este tipo, el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son cada uno una molécula Fab que comprende una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 31.

En un modo de realización, el tercer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc. En un modo de realización particular, el segundo y el tercer resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno activadora de linfocitos T se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc, y el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno. En otro modo de realización particular, el primer y el tercer resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno activadora de linfocitos T se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc, y el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno. Los componentes de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se pueden fusionar directamente o a través de enlaces peptídicos adecuados. En un modo de realización, el segundo y el tercer resto de unión a antígeno y el dominio Fc forman parte de una molécula de inmunoglobulina. En un modo de realización, el primer y el tercer resto de unión a antígeno y el dominio Fc forman parte de una molécula de inmunoglobulina. En un modo de realización particular, la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la clase IgG. En un modo de realización incluso más particular, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la subclase IgG_1. En otro modo de realización, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la subclase IgG_4.

En un modo de realización particular, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG. En un modo de realización específico, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_1. En otro modo de realización específico, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4. En un modo de realización incluso más específico, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4 que comprende la sustitución aminoacídica S228P. En un modo de realización incluso más específico, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4 que comprende las sustituciones aminoacídicas L235E y S228P (SPLE). En modos de realización particulares, el dominio Fc es un dominio Fc humano.

En modos de realización particulares, el dominio Fc comprende una modificación que promueve la asociación de la primera y la segunda subunidad del dominio Fc. En un modo de realización específico de este tipo, un residuo aminoacídico del dominio CH3 de la primera subunidad del dominio Fc se reemplaza por un residuo aminoacídico que tiene un volumen de cadena lateral más grande, generando de este modo una protuberancia dentro del dominio CH3 de la primera subunidad que se puede colocar en una cavidad dentro del dominio CH3 de la segunda subunidad, y un residuo aminoacídico del dominio CH3 de la segunda subunidad del dominio Fc se reemplaza por un residuo aminoacídico que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño, generando de este modo una cavidad dentro del dominio CH3 de la segunda subunidad dentro de la que se puede colocar la protuberancia dentro del dominio CH3 de la primera subunidad.

En un modo de realización particular, el dominio Fc presenta una afinidad de unión reducida por un receptor de Fc y/o función efectora reducida, en comparación con un dominio Fc de IgG_1 natural. En determinados modos de realización, el dominio Fc se genomanipula para que tenga afinidad de unión reducida por un receptor de Fc y/o función efectora reducida, en comparación con un dominio Fc no genomanipulado. En un modo de realización, el dominio Fc comprende una o más sustituciones aminoacídicas que reducen la unión a un receptor de Fc y/o la función efectora. En un modo de realización, la una o más sustituciones aminoacídicas en el dominio Fc que reducen la unión a un receptor de Fc y/o la función efectora están en una o más posiciones seleccionadas del grupo de L234, L235 y P329 (numeración de Kabat). En modos de realización particulares, cada subunidad del dominio Fc comprende tres sustituciones aminoacídicas que reducen la unión a un receptor de Fc y/o la función efectora en la que dichas sustituciones aminoacídicas son L234A, L235A y P329G. En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc es un

dominio Fc de IgG_1, en particular un dominio Fc de IgG_1 humana. En otros modos de realización, cada subunidad del dominio Fc comprende dos sustituciones aminoacídicas que reducen la unión a un receptor de Fc y/o la función efectora en la que dichas sustituciones aminoacídicas son L235E y P329G. En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4, en particular un dominio Fc de IgG_4 humana.

En un modo de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ. En un modo de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc humano. En un modo de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En un modo de realización específico, el receptor de Fc es FcγRIIa, FcγRI y/o FcγRIIIa humano. En un modo de realización, la función efectora es citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

En otros modos de realización, el antígeno de célula diana al que se puede unir la molécula de unión a antígeno biespecífica es un antígeno de célula tumoral.

En otro aspecto se proporciona una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34 para su uso en una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. En un modo de realización, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31. En un modo de realización, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35.

En otro aspecto se proporciona una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34 para su uso en una colección para la producción de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. En un modo de realización, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31. En un modo de realización, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35.

En otro aspecto se proporciona un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

En otro aspecto se proporciona un polipéptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un polinucleótido aislado que codifica una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención. La invención proporciona además un vector de expresión que comprende el polinucleótido aislado de la invención, y una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado o el vector de expresión de la invención. En algunos modos de realización, la célula huésped es una célula eucariota, en particular una célula de mamífero.

En otro aspecto se proporciona un procedimiento de producción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención, que comprende las etapas de a) cultivar la célula huésped de la invención en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T y b) recuperar la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. La invención también engloba una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T producida por el procedimiento de la invención.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se engloban por la invención procedimientos de uso de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T y la composición farmacéutica de la invención. En un aspecto, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T o una composición farmacéutica de la invención para su uso como medicamento. En un aspecto se proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita el mismo. En un modo de realización específico, la enfermedad es cáncer.

En cualquiera de los modos de realización anteriores, el individuo preferentemente es un mamífero, en particular un ser humano.

En otro aspecto se proporciona un procedimiento para identificar una cadena pesada variable para su uso en una molécula de unión a antígeno biespecífica que es específica para un antígeno de activación de linfocitos T y un antígeno de célula diana, que comprende la etapa de cribado de una colección combinatoria que comprende cadenas pesadas variables con una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34. En un aspecto, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31. En un aspecto, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35.

Breve descripción de los dibujos

Las **figuras 1A-I** ilustran configuraciones ejemplares de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T (TCB) divulgadas en el presente documento. Todas las construcciones, excepto el formato kappa-

lambda en (Fig. 1I) tienen mutaciones P329G LALA y comprenden fragmentos Fc de botón en ojal con modificaciones de botón en ojal. (Fig. 1A) Ilustración de la "TCB FolR1 2+1, invertido (cadena ligera común)". La proteína de unión a FolR1 se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de botón. Estas construcciones no se cruzan y tienen tres veces la misma cadena ligera VLCL. (Fig. 1B) Ilustración de la "TCB FolR1 1+1, cabeza a cola (cadena ligera común)". Estas construcciones no se cruzan y tienen dos veces la misma cadena ligera VLCL. (Fig. 1C) Ilustración de la "TCB FolR1 1+1, clásico (cadena ligera común)". Estas construcciones no se cruzan y tienen dos veces la misma cadena ligera VLCL. (Fig. 1D) Ilustración de la "TCB FolR1 2+1, clásico (cadena ligera común)". La proteína de unión a CD3 se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de botón. Estas construcciones no se cruzan y tienen tres veces la misma cadena ligera VLCL. (Fig. 1E) Ilustración de la "TCB FolR1 2+1 crossfab, clásico". Estas construcciones comprenden una cadena Ck-VH para la proteína de unión a CD3 en lugar de la cadena CH1-VH convencional. La proteína de unión a CD3 se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de botón. (Fig. 1F) Ilustración de la "TCB FolR1 2+1 crossfab, invertido". Estas construcciones comprenden una cadena Ck-VH para la proteína de unión a CD3 en lugar de la cadena CH1-VH convencional. La proteína de unión a FolR1 se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de botón. (Fig. 1G) Ilustración de la "TCB FolR1 1+1 crossfab, cabeza a cola". Estas construcciones comprenden una cadena Ck-VH para la proteína de unión a CD3 en lugar de la cadena CH1-VH convencional. (Fig. 1H) Ilustración de la "TCB FolR1 1+1 crossfab, clásico". Estas construcciones comprenden una cadena Ck-VH para la proteína de unión a CD3 en lugar de la cadena CH1-VH convencional. La figura 1I ilustra el formato de anticuerpo CD3/FolR1 kappa-lambda. Estas construcciones comprenden una cadena ligera común cruzada VLCH1 y una cadena VHCL cruzada específica para CD3 y una cadena VHCL cruzada específica para FolR1.

Las **figuras 2A-C** representan gráficos que resumen la unión de proteínas de unión a IgG FolR1 a las células HeLa. La unión de las proteínas de unión a FolR1 recién generadas a FolR1 expresado en células HeLa se determinó por citometría de flujo. Los anticuerpos unidos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia.

Las **figuras 3A-B** representan gráficos que resumen la especificidad de proteínas de unión a FolR1 por FolR1. La unión de las IgG FolR1 a las células HEK transfectadas de forma transitoria con FolR1 o FolR2 se analizó por citometría de flujo para identificar clones que se unen específicamente a FolR1 y no a FolR2. Los anticuerpos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia.

Las **figuras 4A-B** representan gráficos que resumen la reactividad cruzada de proteínas de unión a FolR1 contra cyFolR1. La reactividad cruzada de los anticuerpos anti-FolR1 contra FolR1 de macaco se abordó en células HEK transfectadas de forma transitoria con cyFolR1 por citometría de flujo. Los anticuerpos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia.

La **figura 5** representa un gráfico que ilustra la internalización de las TCB FolR1 después de la unión. La internalización de las cuatro TCB FolR1 después de la unión a FolR1 se sometió a prueba en células HeLa. Las TCB FolR1 restantes en la superficie se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia después de los puntos temporales de incubación indicados a 37 °C. Se calculó el porcentaje de internalización.

Las **figuras 6A-E** representan gráficos que resumen la unión de las IgG FolR1 a células con diferentes niveles de expresión de FolR1. La unión de las IgG 9D11, 16D5 y Mov19 a células tumorales con diferentes niveles de expresión de FolR1 se analizó por citometría de flujo. La IgG DP47 se incluyó como control de isotipo y MKN-45 se incluyó como línea celular negativa para FolR1. Los anticuerpos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia.

Las **figuras 7A-L** representan gráficos que resumen la destrucción mediada por linfocitos T de células HT-29 y SKOV3. Las TCB FolR1 se usaron para someter a prueba la destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales HT-29 y SKOV3 y la regulación por incremento del marcador de activación en linfocitos T tras la destrucción. (Figs. 7A-D) La destrucción mediada por linfocitos T de células HT-29 y SKOV3 en presencia de TCB FolR1 9D11 y TCB FolR1 16D5 se midió por liberación de LDH después de 24 h y 48 h. La TCB DP47 se incluyó como control negativo. Después de 48 h de incubación, la regulación por incremento de los marcadores de activación CD25 y CD69 en linfocitos T CD8 y linfocitos T CD4 tras la destrucción de células tumorales SKOV3 (Fig. 7E-H) o HT-29 (Fig. 7I-L) se evaluó por citometría de flujo.

La **figura 8** representa un gráfico que muestra la ausencia de unión anti-FolR1 a los eritrocitos. Los eritrocitos se seleccionaron como población positiva para CD235a y la unión de IgG 9D11, IgG 16D5, IgG Mov19 e IgG DP47 a esta población se determinó por citometría de flujo. Los anticuerpos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia.

Las **figuras 9A-D** representan gráficos que resumen la regulación por incremento del marcador de activación en sangre completa. La regulación por incremento de los marcadores de activación CD25 y CD69 de linfocitos T CD4 y

linfocitos T CD8 24 h después de la adición de TCB FolR1 9D11, TCB FolR1 16D5, TCB FolR1 Mov19 y TCB DP47 se analizó por citometría de flujo.

Figura 10 Unión de variantes aglucosiladas de TCB 9D11 a células HeLa. La unión de variantes aglucosiladas de TCB FolR1 9D11 a células HeLa se comparó con la unión de la TCB 9D11 original en células HeLa. Los anticuerpos se detectaron con un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia y la unión se determinó por citometría de flujo.

Las **figuras 11A-F** representan gráficos que resumen la destrucción mediada por linfocitos T con variantes aglucosiladas de TCB FolR1 9D11 de células tumorales. Se usaron variantes aglucosiladas de TCB FolR1 9D11 para someter a prueba la destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales (Fig. 11A-D) SKOV3, MKN-45 (como control negativo de FolR1) y (Fig. 11E-F) HT-29 en comparación con la destrucción con la TCB FolR1 9D11 original. Como valor de lectura se usó la liberación de LDH después de 24 h y 48 h.

Las **figuras 12A-X** representan gráficos que resumen la destrucción mediada por linfocitos T de células epiteliales primarias. Se usaron células epiteliales primarias con niveles muy bajos de FolR1 para someter a prueba la destrucción mediada por linfocitos T con TCB FolR1 16D5 y TCB FolR1 9D11, TCB DP47 se incluyó como control negativo y las células HT29 se incluyeron como control positivo. (Figs. 12A-H) La liberación de LDH de células del pigmento retiniano humano (HRP), corticales renales humanas (HRC), bronquiales humanas (HB) y de células HT29 se determinó después de 24 h y 48 h. La regulación por incremento de los marcadores de activación CD25 y CD69 en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 tras la destrucción de (Figs. 12I-L) HRP, (Figs. 12M-P) HRC, (Figs. 12Q-T) HB y (Figs. 12U-X) HT29 se determinó después de 48 h por citometría de flujo.

Las **figuras 13A-C** muestran una comparación de diferentes formatos de TCB con 16D5. Se compararon cuatro formatos de TCB diferentes que contienen la proteína de unión a FolR1 16D5 en cuanto a la unión a células HeLa (Fig. 13A), la destrucción mediada por linfocitos T de las células SKOV3 después de 24 h y 48 h (Fig. 14B) y la regulación por incremento de los marcadores de activación CD25 y CD69 en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 48 h después de la destrucción (Fig. 14C).

Las **figuras 14A-C** representan una comparación de diferentes formatos de TCB con 9D11. Se compararon tres formatos de TCB diferentes que contienen la proteína de unión a FolR1 9D11 en cuanto a la unión a células HeLa (A), la destrucción mediada por linfocitos T de las células SKOV3 después de 24 h y 48 h (B) y la regulación por incremento de los marcadores de activación CD25 y CD69 en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 48 h después de la destrucción (C).

La **figura 15** representa un perfil farmacocinético de TCB FolR1 en ratones NOG para tres dosis diferentes.

La **figura 16** ilustra un protocolo experimental para el estudio de eficacia con TCB FolR1.

Las **figuras 17A-B** representan curvas de crecimiento tumoral. (Fig. 17A) Valores medios y SEM de los volúmenes tumorales en los diferentes grupos de tratamiento. (Fig. 17B) Crecimiento tumoral de ratones individuales en todos los grupos de tratamiento. TG1 (inhibición del crecimiento tumoral) proporciona el porcentaje del volumen tumoral medio en comparación con el grupo de vehículo.

La **figura 18** muestra los pesos de los tumores al finalizar el estudio.

Las **figuras 19A-B** muestran el análisis FACS de linfocitos T infiltrantes de tumor el día 32 del estudio. (Fig. 19A) Se tiñeron suspensiones de células individuales tumorales con anticuerpo anti-CD3/CD4/CD8 humano y se analizaron por citometría de flujo. (Fig. 19B) Valores medios y SEM de recuentos de linfocitos T por mg de tejido tumoral en diferentes grupos de tratamiento.

Las **figuras 20A-B** muestran el análisis FACS para la activación/desgranulación de linfocitos T y la secreción de citocinas el día 32 del estudio. Los linfocitos T infiltrantes de tumor CD4+ (Fig. 20A) y CD8+ (Fig. 20B) se tiñeron para citocinas, marcadores de activación y desgranulación. Se muestran los valores medios y la SEM de los recuentos de linfocitos T por mg de tejido tumoral en diferentes grupos de tratamiento.

Las **figuras 21A-B** muestran el porcentaje de lisis tumoral. Las células SKOV3 se incubaron con PBMC en presencia de TCB DP47 o TCB FolR1 kappa lambda. Después de 24 h (Fig. 21 A) y 48 h (Fig. 21B) se determinó la destrucción de células tumorales midiendo la liberación de LDH.

Las **figuras 22A-D** muestran la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T CD4. Las células SKOV3 se incubaron con PBMC en presencia de TCB DP47 o TCB FolR1 kappa lambda. Después de 48 h, se midió la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T CD4 (Fig. 22A-B) y linfocitos T CD8 (Fig. 22C-D) por citometría de flujo.

Las **figuras 23A-B** muestran el porcentaje de lisis tumoral. Destrucción por linfocitos T de células SKov-3 (expresión

media de FolR1) inducida por TCB 36F2, TCB Mov19 y TCB 21A5 después de 24 h (Fig. 23A) y 48 h (Fig. 23B) de incubación (E:T = 10:1, PBMC efectores humanos).

Las **figuras 24A-C** muestran la destrucción por linfocitos T inducida por TCB 36F2, TCB 16D5, TCB 16D5 clásica, TCB 16D5 1+1 y TCB 16D5 HT de células tumorales humanas HeLa (expresión alta de FolR1) (Fig. 24A), Skov-3 (expresión media de FolR1) (Fig. 24B) y HT-29 (expresión baja de FolR1) (Fig. 24C) (E:T = 10:1, PBMC efectores humanos, tiempo de incubación 24 h). La TCB DP47 se incluyó como control de unión negativa.

Las **figuras 25A-C** muestran la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T humanos CD8+ (Fig. 25A, B) y CD4+ (Fig. 25C) después de la destrucción mediada por linfocitos T de células HeLa (expresión alta de FolR1) (Fig. 25A), células SKov-3 (expresión media de FolR1) (Fig. 25B) y células HT-29 (expresión baja de FolR1) (Fig. 25C) (E:T = 10:1, 48 h de incubación) inducida por TCB 36F2, TCB 16D5 y TCB DP47 (control de unión negativa).

Las **figuras 26A-F** muestran la destrucción por linfocitos T inducida por TCB 36F2, TCB 16D5 y TCB DP47 de células epiteliales corticales renales humanas (Fig. 26A, B), células epiteliales de pigmento retiniano humanas (Fig. 26C, D) y células HT-29 (Fig. 26E, F) después de 24 h (Fig. 26A, C, E) y 48 h (Fig. 26B, D, F) de incubación (E:T = 10:1, PBMC efectores humanos).

La **figura 27** representa una tabla que resume la cuantificación de los sitios de unión a FolR1 en diversas líneas celulares normales y cancerosas.

Las **figuras 28A-B** muestran la unión de TCB 16D5 y sus correspondientes variantes de desamidación de CD3 TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA y de TCB 9D11 y sus variantes de desamidación TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA a CD3 humano expresado en células Jurkat.

Las **figuras 29A-B** muestran la destrucción por linfocitos T de células tumorales humanas SKov-3 (expresión media de FolR1) inducida por TCB 16D5 y sus correspondientes variantes de desamidación de CD3 TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA (Fig. 29A) y por TCB 9D11 y sus variantes de desamidación TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA (Fig. 29B) (E:T = 10:1, PBMC efectores humanos, tiempo de incubación 24 h). La TCB DP47 se incluyó como control de unión negativa.

Las **figuras 30A-B** muestran la destrucción por linfocitos T de células tumorales humanas HT-29 (expresión baja de FolR1) inducida por TCB 16D5 y sus correspondientes variantes de desamidación de CD3 TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA (Fig. 30A) y por TCB 9D11 y sus variantes de desamidación TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA (Fig. 30B) (E:T = 10:1, PBMC efectores humanos, tiempo de incubación 24 h). La TCB DP47 se incluyó como control de unión negativa.

La **figura 31** muestra una alineación de secuencias de los dominios VH de las 3 proteínas de unión específicas de MUC1 identificadas. Los tres clones son derivados de la línea germinal IGHV3-23 (SEQ ID NO: 136). El clon 58D6 (SEQ ID NO: 60) y el clon 110A5 (SEQ ID NO: 64) se originan en una colección que solo se aleatorizó en CDR3, mientras que el clon 106D2 (SEQ ID NO: 62) se identificó en una colección aleatorizada en las 3 CDR. Las posiciones en CDR1 y 2 que se desvían de la secuencia de la línea germinal se imprimen en cursiva.

Las **figuras 32A-B** muestran resultados de caracterización de proteínas de unión CLC. (Fig. 32A) Análisis por SPR. Análisis cinéticos basados en SPR de 3 clones que se unen específicamente a MUC1. Las líneas suaves representan un ajuste global de los datos a un modelo de interacción 1:1. (Fig. 32B) Resumen de parámetros cinéticos y termodinámicos.

La **figura 33** representa un diagrama esquemático de la construcción de TCB generada. La construcción TCB CLC consiste en 3 cadenas de inmunoglobulina diferentes: 1) una cadena pesada de IgG que alberga las "mutaciones de ojal" en la parte Fc y que contiene el dominio VH específico de la diana; 2) una cadena de Ig que consiste en el dominio VH específico de la diana y un dominio CH1, seguido del dominio VH específico de CD3 y un dominio CH1, seguido de la parte Fc que contiene las mutaciones de "botón"; y 3) la cadena ligera común que se une tanto a las secuencias específicas de MUC1 como a las específicas de CD3.

Las **figuras 34A-B** representan la purificación y caracterización analítica de las TCB específicas de MUC1 producidas (Fig. 34A y Fig. 34B). El procedimiento de purificación implicó una etapa de afinidad (proteína A) seguida de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200, GE Healthcare). El producto final se analizó y caracterizó por cromatografía analítica de exclusión por tamaño (columna Superdex 200) y por electroforesis capilar.

La **figura 35** representa el análisis por SPR de las proteínas de unión específicas de MUC1 en el formato de TCB. Se muestra la unión de 2 TCB específicas de MUC1 a diferentes concentraciones (véase el texto) a MUC1 o a un antígeno no relacionado. Las líneas suaves representan un ajuste global de los datos a un modelo de interacción 1:1.

Las **figuras 36A-G** representan anticuerpos bivalentes y trivalentes biespecíficos que comprenden solo los fragmentos Fab (específicos de CD3 y BCMA) con o sin una parte Fc como se especifica: (A) Fab BCMA-Fc-Fab CD3; (B) Fab

BCMA-Fc-Fab CD3-Fab BCMA; (C) Fab BCMA-Fc-Fab BCMA-Fab CD3; (D) Fc-Fab CD3-Fab BCMA; (E) Fc-Fab BCMA-Fab CD3; (F) Fab CD3-Fab BCMA-Fab BCMA; (G) Fab CD3-Fab BCMA. Preferentemente, las LC de Fab CD3 y Fab BCMA son idénticas (LC común) para evitar el emparejamiento erróneo de LC y reducir los productos secundarios. El Fab CD3 y Fab BCMA están vinculados entre sí con conectores flexibles.

La **figura 37** representa la ausencia de unión del anticuerpo IgG BCMA al receptor TACI detectada por resonancia de plasmón superficial (SPR). La curva 1 corresponde a la señal en el canal de referencia, la curva 2 al canal donde se produce la unión (canal de unión) y la curva 2-1 es la señal restada (canal de unión - canal de referencia), lo que significa que esta es la señal debida al acontecimiento de unión. El ensayo de unión por SPR demostró claramente que la IgG pSCHLI372 no se unía al receptor TACI humano.

Las **figuras 38A-C** muestran la producción y purificación de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA. Gráficos CE-SDS (no reducido (superior) y reducido (inferior)) de las preparaciones de proteína final después de las etapas de purificación por cromatografía de afinidad por proteína A (PA) y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) aplicadas a (A) pSCHLI333-TCB CLC, (B) pSCHLI372-TCB CLC, (C) pSCHLI373-TCB CLC. Las tres moléculas son de formato molecular como se describe en la figura 36B.

Las **figuras 39A-B** muestran la unión de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA en células H929 positivas para BCMA con alto nivel de expresión por citometría de flujo. La mediana de la intensidad de fluorescencia de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA se representaron en función de las concentraciones de anticuerpos (0,12 a 500 nM); (A) pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC en células H929 (A) y células MKN45 (B). DP47-TCB es una TCB de control negativo que no se unió a BCMA a concentraciones inferiores a 100 nM (véase el ejemplo 7).

Las **figuras 40A-B** muestran la unión de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA en linfocitos T Jurkat positivos para CD3 medida por citometría de flujo. Mediana de la intensidad de fluorescencia para los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC) que se unen a linfocitos T Jurkat y representada en función de la concentración de anticuerpos. No se une a las células MKN45 negativas para BCMA y negativas para CD3 a concentraciones inferiores a 100 nM.

La **figura 41** muestra la activación de linfocitos T mediada por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA en presencia de células H929 detectada por citometría de flujo. Nivel de expresión del marcador de activación temprana CD69 y del marcador de activación tardía CD25 en linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ después de 48 horas de incubación. Los anticuerpos pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC indujeron una regulación por incremento de los marcadores de activación CD69 y CD25 de manera específica y dependiente de la concentración en presencia de células diana positivas para BCMA. Proporción E:T usada como 10 PBMC:1 célula H929; las células se incubaron durante 48 h antes de la medición de la regulación por incremento de CD69 y CD25. DP47-TCB, que es una TCB de control negativo, no indujo la activación de linfocitos T. Los resultados representativos son de dos experimentos independientes.

Las **figuras 42A-B** muestran que los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA inducen la destrucción redirigida por linfocitos T de células de mieloma H929 positivas para BCMA con alto nivel de expresión, como se detecta mediante el ensayo colorimétrico de liberación de LDH. Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA pSCHLI372-TCB CLC (A, B) y pSCHLI373-TCB CLC (A) indujeron una destrucción dependiente de la concentración de células de mieloma H929 positivas para BCMA con alto nivel de expresión, medida por la liberación de LDH. DP47-TCB, que es una TCB de control negativo que no se une a BCMA sino solo a CD3, no indujo la destrucción de células H929. Proporción E:T usada como 10 PBMC:1 célula H929; las células se incubaron durante 24 h antes de medir la liberación de LDH. Los resultados representativos son de tres experimentos independientes.

La **figura 43** muestra que los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA inducen la destrucción redirigida por linfocitos T de células de mieloma U266 positivas para BCMA con nivel de expresión medio/bajo, como se detecta mediante el ensayo colorimétrico de liberación de LDH. Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC indujeron una destrucción dependiente de la concentración de células de mieloma U266 positivas para BCMA con nivel de expresión medio/bajo, medida por la liberación de LDH. DP47-TCB, que es una TCB de control negativo que no se une a BCMA sino solo a CD3, no indujo la destrucción de células H929. Proporción E:T usada como 10 PBMC:1 célula U266; las células se incubaron durante 24 h antes de medir la liberación de LDH. Los resultados representativos son de dos experimentos independientes.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Los términos se usan en el presente documento como se usan en general en la técnica, a menos que se defina de otro modo a continuación.

Como se usa en el presente documento, el término "molécula de unión a antígeno" se refiere en su sentido más amplio a una molécula que se une específicamente a un determinante antigénico. Ejemplos de moléculas de unión a antígeno

son inmunoglobulinas y derivados, por ejemplo, fragmentos, de las mismas.

El término "biespecífica" quiere decir que la molécula de unión a antígeno se puede unir específicamente a al menos dos determinantes antigénicos distintos. Típicamente, una molécula de unión a antígeno biespecífica comprende dos sitios de unión a antígeno, cada uno de los cuales es específico para un determinante antigénico diferente. En determinados modos de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica se puede unir simultáneamente a dos determinantes antigénicos, en particular dos determinantes antigénicos expresados en dos células distintas.

El término "valente" como se usa en el presente documento indica la presencia de un número especificado de sitios de unión a antígeno en una molécula de unión a antígeno. Como tal, el término "unión monovalente a un antígeno" indica la presencia de un (y no más de un) sitio de unión a antígeno específico para el antígeno en la molécula de unión a antígeno.

Un "sitio de unión a antígeno" se refiere al sitio, es decir, uno o más residuos aminoacídicos, de una molécula de unión a antígeno que proporciona interacción con el antígeno. Por ejemplo, el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo comprende residuos aminoacídicos de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Una molécula de inmunoglobulina natural típicamente tiene dos sitios de unión a antígeno, una molécula Fab típicamente tiene un único sitio de unión a antígeno.

Como se usa en el presente documento, el término "resto de unión a antígeno" se refiere a una molécula polipeptídica que se une específicamente a un determinante antigénico. En un modo de realización, un resto de unión a antígeno puede dirigir la entidad a la que se une (por ejemplo, un segundo resto de unión a antígeno) a un sitio diana, por ejemplo, a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral que porta el determinante antigénico. En otro modo de realización, un resto de unión a antígeno puede activar la señalización a través de su antígeno diana, por ejemplo, un antígeno del complejo receptor de linfocitos T. Los restos de unión a antígeno incluyen anticuerpos y fragmentos de los mismos, como se define adicionalmente en el presente documento. Los restos de unión a antígeno particulares incluyen un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprende una región variable de la cadena pesada del anticuerpo y una región variable de la cadena ligera del anticuerpo. En determinados modos de realización, los restos de unión a antígeno pueden comprender regiones constantes de anticuerpo, como se define adicionalmente en el presente documento y es conocido en la técnica. Las regiones constantes de la cadena pesada útiles incluyen cualquiera de los cinco isotipos: α, δ, ε, γ o μ. Las regiones constantes de la cadena ligera útiles incluyen cualquiera de los dos isotipos: κ y λ.

Como se usa en el presente documento, el término "determinante antigénico" es sinónimo de "antígeno" y "epítopo" y se refiere a un sitio (por ejemplo, un tramo contiguo de aminoácidos o una configuración conformacional constituida por diferentes regiones de aminoácidos no contiguos) en una macromolécula polipeptídica a la que se une un resto de unión a antígeno, formando un complejo de resto de unión a antígeno-antígeno. Se pueden encontrar determinantes antigénicos útiles, por ejemplo, en las superficies de células tumorales, en las superficies de células infectadas por virus, en las superficies de otras células afectadas, en la superficie de células inmunitarias, libres en suero sanguíneo y/o en la matriz extracelular (ECM). Las proteínas denominadas antígenos en el presente documento (por ejemplo, MCSP, FAP, CEA, EGFR, CD33, CD3) pueden ser cualquier forma natural de las proteínas de cualquier fuente de vertebrados, incluyendo mamíferos tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. En un modo de realización particular, el antígeno es una proteína humana. Cuando se hace referencia a una proteína específica en el presente documento, el término engloba la proteína no procesada "de longitud completa", así como cualquier forma de la proteína que resulte del procesamiento en la célula. El término también engloba variantes naturales de la proteína, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. Las proteínas humanas ejemplares útiles como antígenos incluyen, pero no se limitan a, el receptor 1 de folato (FolR1), receptor alfa de folato (FRA); proteína de unión a folato (FBP); FolR1 humano (UniProt n.º: P15328); FolR1 murino (UniProt n.º: P35846); FolR1 de macaco (UniProt n.º: G7PR14), mucina-1 (MUC1) y antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), y CD3, en particular la subunidad épsilon de CD3 (véase UniProt n.º P07766 (versión 130), NCBI RefSeq n.º NP_000724.1 para la secuencia humana; o UniProt n.º Q95LI5 (versión 49), NCBI GenBank n.º BAB71849.1 para la secuencia de macaco cangrejero [*Macaca fascicularis*]).

En determinados modos de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención se une a un epítopo de un antígeno activador de linfocitos T o un antígeno de célula diana que se conserva entre el antígeno activador de linfocitos T o el antígeno de célula diana de diferentes especies.

Por "unión específica" se quiere decir que la unión es selectiva para el antígeno y se puede discriminar de las interacciones no deseadas o no específicas. La capacidad de un resto de unión a antígeno de unirse a un determinante antigénico específico se puede medir a través de un ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) o bien otras técnicas conocidas por un experto en la técnica, por ejemplo, la técnica de resonancia de plasmón superficial (SPR) (analizada en un instrumento BIAcore) (Liljeblad *et al*., Glyco J 17, 323-329 (2000)) y ensayos de unión tradicionales (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)). En un modo de realización, el grado de unión de un resto de unión a antígeno a una proteína no relacionada es inferior a aproximadamente un 10 % de la unión del resto de unión a antígeno al antígeno medida, por ejemplo, mediante SPR. En determinados modos de realización, un resto de unión a antígeno que se une al antígeno, o una molécula de unión a antígeno que comprende ese resto de unión a antígeno,

tiene una constante de disociación (K_D) de ≤ 1 µM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0,1 nM, ≤ 0,01 nM o ≤ 0,001 nM (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M, por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M).

"Afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un receptor) y su compañero de unión (por ejemplo, un ligando). A menos que se indique de otro modo, como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, un resto de unión a antígeno y un antígeno, o un receptor y su ligando). La afinidad de una molécula X por su compañera Y se puede representar en general por la constante de disociación (K_D), que es la proporción de las constantes de velocidad de disociación y asociación (k_{dis} y k_{as}, respectivamente). Por tanto, las afinidades equivalentes pueden comprender diferentes constantes de velocidad, siempre que la proporción de las constantes de velocidad permanezca igual. La afinidad se puede medir por procedimientos bien establecidos conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento. Un procedimiento particular para medir la afinidad es la resonancia de plasmón superficial (SPR).

"Unión reducida", por ejemplo, unión reducida a un receptor de Fc, se refiere a una disminución en la afinidad para la interacción respectiva, como se mide, por ejemplo, por SPR. Por claridad, el término incluye también la reducción de la afinidad hasta cero (o por debajo del límite de detección del procedimiento analítico), es decir, la supresión completa de la interacción. A la inversa, "unión incrementada" se refiere a un incremento en la afinidad de unión para la interacción respectiva.

Un "antígeno activador de linfocitos T" como se usa en el presente documento se refiere a un determinante antigénico expresado en la superficie de un linfocito T, en particular un linfocito T citotóxico, que puede inducir la activación de linfocitos T tras la interacción con una molécula de unión a antígeno. Específicamente, la interacción de una molécula de unión a antígeno con un antígeno activador de linfocitos T puede inducir la activación de linfocitos T desencadenando la cascada de señalización del complejo receptor de linfocitos T. En un modo de realización particular, el antígeno activador de linfocitos T es CD3.

"Activación de linfocitos T" como se usa en el presente documento se refiere a una o más respuestas celulares de un linfocito T, en particular un linfocito T citotóxico, seleccionadas de: proliferación, diferenciación, secreción de citocinas, liberación de moléculas efectoras citotóxicas, actividad citotóxica y expresión de marcadores de activación. Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención pueden inducir la activación de linfocitos T. Los ensayos adecuados para medir la activación de linfocitos T son conocidos en la técnica descrita en el presente documento.

Un "antígeno de célula diana" como se usa en el presente documento se refiere a un determinante antigénico presentado en la superficie de una célula diana, por ejemplo, una célula en un tumor tal como una célula cancerosa o una célula del estroma tumoral. Como se usa en el presente documento, los términos "primero" y "segundo" con respecto a los restos de unión a antígeno, etc., se usan por conveniencia para distinguir cuando hay más de uno de cada tipo de resto. El uso de estos términos no pretende conferir una orientación u orden específico de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T a menos que así se establezca explícitamente.

El término "BCMA", como se usa en el presente documento, se refiere a la diana de maduración de linfocitos B humanos, también conocido como BCMA; TR_17HUMAN, TNFRSF17 (UniProt Q02223), que es un miembro de la superfamilia de receptores de necrosis tumoral que se expresa preferentemente en células plasmáticas diferenciadas. El dominio extracelular de BCMA consiste, de acuerdo con UniProt, en los aminoácidos 1-54 (o 5-51). El término "anticuerpo contra BCMA, anticuerpo anti-BCMA", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que se une específicamente a BCMA.

El término "CD3ε o CD3", como se usa en el presente documento, se refiere a CD3ε humano descrito en UniProt P07766 (CD3_E HUMAN). El término "anticuerpo contra CD3, anticuerpo anti-CD3" se refiere a un anticuerpo que se une a CD3ε.

Una "molécula Fab" se refiere a una proteína que consiste en el dominio VH y CH1 de la cadena pesada (la "cadena pesada de Fab") y el dominio VL y CL de la cadena ligera (la "cadena ligera de Fab") de una inmunoglobulina. El término "moléculas Fab que tienen cadenas ligeras VLCL idénticas", como se usa en el mismo, se refiere a proteínas de unión que comparten una cadena ligera, pero que aún tienen especificidades separadas. Las moléculas biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención comprenden al menos dos moléculas Fab que tienen cadenas ligeras VLCL idénticas. Las cadenas pesadas correspondientes se remodelan y confieren unión específica a un antígeno biespecífico activador de linfocitos T y un antígeno de célula diana, respectivamente.

Por "fusionado" se quiere decir que los componentes (por ejemplo, una molécula Fab y una subunidad de dominio Fc) se unen por enlaces peptídicos, directamente o bien por medio de uno o más conectores peptídicos.

El término "cadena ligera común", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena ligera que, dentro de una molécula biespecífica o multiespecífica, se empareja con más de una cadena pesada o fragmento de la misma para formar al menos un primer y un segundo sitio de unión a antígeno, por ejemplo, un Fab, cada uno específico para

un antígeno diferente. Por ejemplo, la cadena ligera común se empareja con una primera cadena pesada o fragmento de la misma dentro de una molécula de unión a antígeno para formar un primer sitio de unión específico para un antígeno tumoral, y otra copia de la cadena ligera común se empareja con una segunda cadena pesada o fragmento de la misma dentro de una molécula de unión a antígeno para formar un segundo sitio de unión específico para un antígeno activador de linfocitos T, por ejemplo, CD3.

El término "molécula de inmunoglobulina" se refiere a una proteína que tiene la estructura de un anticuerpo natural. Por ejemplo, las inmunoglobulinas de la clase IgG son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 dalton, compuestas de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que se unen con enlaces disulfuro. Desde el extremo N al extremo C, cada cadena pesada tiene una región variable (VH), también llamada dominio variable pesado o dominio variable de la cadena pesada, seguida de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3), también llamados regiones constantes de la cadena pesada. De forma similar, desde el extremo N al extremo C, cada cadena ligera tiene una región variable (VL), también llamada dominio variable ligero o dominio variable de la cadena ligera, seguida de un dominio constante ligero (CL), también llamado región constante de la cadena ligera. La cadena pesada de una inmunoglobulina se puede asignar a uno de cinco tipos, llamados α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG) o μ (IgM), algunos de los cuales se pueden dividir además en subtipos, por ejemplo, γ_1 (IgG_1), γ_2 (IgG_2), γ_3 (IgG_3), γ_4 (IgG_4), α_1 (IgA_1) y α_2 (IgA_2). La cadena ligera de una inmunoglobulina se puede asignar a uno de dos tipos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), basados en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante. Una inmunoglobulina consiste esencialmente en dos moléculas Fab y un dominio Fc, unidos por medio de la región bisagra de inmunoglobulina.

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio y engloba diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo, pero sin limitarse a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y fragmentos de anticuerpo siempre que presenten la actividad de unión a antígeno deseada.

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo monocatenarias (por ejemplo, scFv) y anticuerpos de dominio único. Para una revisión de determinados fragmentos de anticuerpo, véase Hudson, *et al*., Nat Med 9, 129-134 (2003). Para una revisión de los fragmentos scFv, véase, por ejemplo, Plückthun, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994); véase también el documento WO 93/16185; y las patentes de EE. UU. n.º 5.571.894 y 5.587.458. Para obtener un análisis de los fragmentos Fab y $F(ab')_2$ que comprenden residuos de epítopos de unión al receptor de rescate y que tienen una semivida *in vivo* incrementada, véase la patente de EE. UU. n.º 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véanse, por ejemplo, los documentos EP 404.097; WO 1993/01161; Hudson *et al*., Nat Med 9, 129-134 (2003); y Hollinger *et al*., Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993). También se describen triacuerpos y tetracuerpos en Hudson *et al*., Nat Med 9, 129-134 (2003). Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de anticuerpo que comprenden todo o una porción del dominio variable de la cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo. En determinados modos de realización, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único humano (Domantis, Inc., Waltham, MA; véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.248.516 B1). Se pueden elaborar fragmentos de anticuerpo por diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitarse a, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción por células huésped recombinantes (por ejemplo, *E. coli* o fago), como se describe en el presente documento.

El término "dominio de unión a antígeno" se refiere a la parte de un anticuerpo que comprende el área que se une específicamente a y es complementaria de parte o la totalidad de un antígeno. Se puede proporcionar un dominio de unión a antígeno, por ejemplo, por uno o más dominios variables de anticuerpo (también llamados regiones variables de anticuerpo). En particular, un dominio de unión a antígeno comprende una región variable de la cadena ligera de anticuerpo (VL) y una región variable de la cadena pesada de anticuerpo (VH).

El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicado en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y de la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo natural tienen, en general, estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones estructurales (FR) conservadas y tres regiones hipervariables (HVR). Véase, por ejemplo, Kindt *et al*., Kuby Immunology, 6.ª ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007). Un único dominio VH o VL puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno.

El término "región hipervariable" o "HVR", como se usa en el presente documento, se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son de secuencia hipervariable y/o forman bucles definidos estructuralmente ("bucles hipervariables"). En general, los anticuerpos tetracatenarios naturales comprenden seis HVR; tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3). Las HVR comprenden en general residuos aminoacídicos de los bucles hipervariables y/o de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR), siendo las últimas las de variabilidad de secuencia más alta y/o estando implicadas en el reconocimiento antigénico. Con la excepción de CDR1 en VH, las CDR comprenden en general los residuos aminoacídicos que forman los bucles hipervariables. Las regiones hipervariables (HVR) también se denominan "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR), y estos términos se usan en el presente documento de manera intercambiable en referencia a porciones de la región variable

que forman las regiones de unión a antígeno. Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) y Chothia *et al.*, J Mol Biol 196:901-917 (1987) han descrito esta región particular, donde las definiciones incluyen residuos aminoacídicos superpuestos o subconjuntos de los mismos cuando se comparan entre sí. No obstante, se pretende que la aplicación de cualquier definición para referirse a una CDR de un anticuerpo o variantes del mismo esté dentro del alcance del término como se define y se usa en el presente documento. Los residuos aminoacídicos apropiados que engloban las CDR, como se define en cada una de las referencias citadas anteriormente, se exponen a continuación en la tabla A como comparación. Los números de residuos exactos que engloba una CDR particular variarán dependiendo de la secuencia y tamaño de la CDR. Los expertos en la técnica pueden determinar de forma rutinaria los residuos que comprende una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

TABLA A. Definiciones de CDR[1]

CDR	Kabat	Chothia	AbM[2]
CDR1 V_H	31-35	26-32	26-35
CDR2 V_H	50-65	52-58	50-58
CDR3 V_H	95-102	95-102	95-102
CDR1 V_L	24-34	26-32	24-34
CDR2 V_L	50-56	50-52	50-56
CDR3 V_L	89-97	91-96	89-97

[1] La numeración de todas las definiciones de CDR en la tabla A está de acuerdo con las convenciones de numeración expuestas por Kabat *et al*. (véase a continuación).

[2] "AbM" con una "b" minúscula como se usa en la tabla A se refiere a las CDR definidas por el programa informático de modelado de anticuerpos "AbM" de Oxford Molecular.

Kabat *et al*. también definieron un sistema de numeración para secuencias de región variable que es aplicable a cualquier anticuerpo. Un experto en la técnica puede asignar inequívocamente este sistema de "numeración de Kabat" a cualquier secuencia de región variable, sin depender de ningún dato experimental más allá de la propia secuencia. Como se usa en el presente documento, "numeración de Kabat" se refiere al sistema de numeración expuesto por Kabat *et al*., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983). A menos que se especifique de otro modo, las referencias a la numeración de posiciones de residuos aminoacídicos específicas en una región variable de anticuerpo están de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat.

Las secuencias polipeptídicas del listado de secuencias no se numeran de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat. Sin embargo, está dentro de la habilidad del experto en la técnica convertir la numeración de las secuencias del listado de secuencias a la numeración de Kabat.

La "región estructural" o "FR" se refiere a residuos del dominio variable distintos de los residuos de la región hipervariable (HVR). La FR de un dominio variable consiste en general en cuatro dominios de FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. En consecuencia, las secuencias de HVR y FR aparecen, en general, en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

La "clase" de un anticuerpo o inmunoglobulina se refiere al tipo de dominio constante o región constante poseído por su cadena pesada. Existen cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas se pueden dividir adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 e IgA_2. Los dominios constantes de la cadena pesada que se corresponden con las diferentes clases de inmunoglobulinas se llaman α, δ, ε, γ y μ, respectivamente.

El término "dominio Fc" o "región Fc" en el presente documento se usa para definir una región C terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de IgG pueden variar ligeramente, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define normalmente para que se extienda desde Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxiterminal de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C terminal (Lys447) de la región Fc puede estar o no estar presente. A menos que se especifique de otro modo en el presente documento, la numeración de residuos aminoacídicos en la región Fc o región constante está de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU, como se describe en Kabat *et al*., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.ª ed. Public Health Service, National Institutes de Health, Bethesda, MD, 1991. Una "subunidad" de un dominio Fc, como se usa en el presente documento, se refiere a uno de los dos polipéptidos que forman el dominio Fc dimérico, es decir, un polipéptido que comprende regiones constantes C terminales de una cadena pesada de inmunoglobulina, que se pueden autoasociar de manera estable. Por ejemplo, una subunidad de un dominio Fc de IgG comprende un dominio constante CH2 de IgG y uno CH3 de IgG.

Una "modificación que promueve la asociación de la primera y la segunda subunidad del dominio Fc" es una manipulación del esqueleto peptídico o las modificaciones postraduccionales de una subunidad del dominio Fc que reduce o evita la asociación de un polipéptido que comprende la subunidad del dominio Fc con un polipéptido idéntico para formar un homodímero. Una modificación que promueve la asociación, como se usa en el presente documento, en particular incluye modificaciones separadas realizadas en cada una de las dos subunidades del dominio Fc que se desean asociar (es decir, la primera y la segunda subunidad del dominio Fc), en la que las modificaciones son complementarias entre sí para promover la asociación de las dos subunidades del dominio Fc. Por ejemplo, una modificación que promueve la asociación puede alterar la estructura o carga de una o ambas subunidades del dominio Fc para hacer que su asociación sea estérica o electrostáticamente favorable, respectivamente. Por tanto, se produce (hetero)dimerización entre un polipéptido que comprende la primera subunidad del dominio Fc y un polipéptido que comprende la segunda subunidad del dominio Fc, que podría no ser idéntico en el sentido de que otros componentes fusionados a cada una de las subunidades (por ejemplo, restos de unión a antígeno) no son iguales. En algunos modos de realización, la modificación que promueve la asociación comprende una mutación aminoacídica en el dominio Fc, específicamente una sustitución aminoacídica. En un modo de realización particular, la modificación que promueve la asociación comprende una mutación aminoacídica separada, específicamente una sustitución aminoacídica, en cada una de las dos subunidades del dominio Fc.

El término "funciones efectoras" se refiere a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen: unión a C1q y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), unión a receptor de Fc, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), secreción de citocinas, captación de antígenos mediada por complejo inmunitario por células presentadoras de antígenos, regulación por disminución de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B) y activación de linfocitos B.

Como se usa en el presente documento, se considera que los términos "genomanipular, genomanipulado, genomanipulación" incluyen cualquier manipulación del esqueleto peptídico o las modificaciones postraduccionales de un polipéptido natural o recombinante o fragmento del mismo. La genomanipulación incluye modificaciones de la secuencia de aminoácidos, del patrón de glucosilación o del grupo de cadena lateral de aminoácidos individuales, así como combinaciones de estos enfoques.

El término "mutación aminoacídica", como se usa en el presente documento, pretende englobar sustituciones, deleciones, inserciones y modificaciones aminoacídicas. Cualquier combinación de sustitución, deleción, inserción y modificación se puede realizar para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas, por ejemplo, unión reducida a un receptor de Fc o asociación incrementada con otro péptido. Las deleciones e inserciones en la secuencia de aminoácidos incluyen deleciones e inserciones de aminoácidos amino y/o carboxiterminales. Mutaciones aminoacídicas particulares son sustituciones aminoacídicas. Con el propósito de alterar, por ejemplo, las características de unión de una región Fc, son en particular preferentes las sustituciones aminoacídicas no conservadoras, es decir, el reemplazo de un aminoácido por otro aminoácido que tiene propiedades estructurales y/o químicas diferentes. Las sustituciones aminoacídicas incluyen el reemplazo por aminoácidos no naturales o por derivados de aminoácidos naturales de los veinte aminoácidos estándar (por ejemplo, 4-hidroxiprolina, 3-metilhistidina, ornitina, homoserina, 5-hidroxilisina). Se pueden generar mutaciones aminoacídicas usando procedimientos genéticos o químicos bien conocidos en la técnica. Los procedimientos genéticos pueden incluir mutagénesis dirigida al sitio, PCR, síntesis génica y similares. Se contempla que también pueden ser útiles procedimientos de alteración del grupo de cadena lateral de un aminoácido por procedimientos distintos de genomanipulación, tales como modificación química. Se pueden usar diversas designaciones en el presente documento para indicar la misma mutación aminoacídica. Por ejemplo, una sustitución de prolina en la posición 329 del dominio Fc por glicina se puede indicar como 329G, G329, G329, P329G o Pro329Gly.

Como se usa en el presente documento, el término "polipéptido" se refiere a una molécula compuesta de monómeros (aminoácidos) unidos linealmente por enlaces amida (también conocidos como enlaces peptídicos). El término "polipéptido" se refiere a cualquier cadena de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. Por tanto, los péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, "proteína", "cadena de aminoácidos" o cualquier otro término usado para referirse a una cadena de dos o más aminoácidos se incluyen dentro de la definición de "polipéptido", y el término "polipéptido" se puede usar en lugar de, o de manera intercambiable con, cualquiera de estos términos. El término "polipéptido" también pretende referirse a los productos de modificaciones del polipéptido posteriores a la expresión, incluyendo, sin limitación, glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica o modificación por aminoácidos no naturales. Un polipéptido se puede derivar de una fuente biológica natural o producir por tecnología recombinante, pero no se traduce necesariamente a partir de una secuencia de ácido nucleico designada. Se puede generar de cualquier manera, incluyendo por síntesis química. Un polipéptido de la invención puede ser de un tamaño de aproximadamente 3 o más, 5 o más, 10 o más, 20 o más, 25 o más, 50 o más, 75 o más, 100 o más, 200 o más, 500 o más, 1000 o más, o 2000 o más aminoácidos. Los polipéptidos pueden tener una estructura tridimensional definida, aunque no tienen necesariamente dicha estructura. Los polipéptidos con una estructura tridimensional definida se denominan plegados, y los polipéptidos que no poseen una estructura tridimensional definida, sino que pueden adoptar un gran número de conformaciones diferentes, se denominan desplegados.

Por un polipéptido "aislado" o una variante o derivado del mismo se entiende un polipéptido que no está en su medio natural. No se requiere ningún nivel particular de purificación. Por ejemplo, un polipéptido aislado se puede retirar de su entorno natural. Los polipéptidos y proteínas producidos de manera recombinante expresados en células huésped se consideran aislados para el propósito de la invención, ya que son polipéptidos naturales o recombinantes que se han separado, fraccionado o purificado parcial o sustancialmente por cualquier técnica adecuada.

El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia polipeptídica de referencia se define como el porcentaje de residuos aminoacídicos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos aminoacídicos en la secuencia polipeptídica de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin tener en consideración ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Se puede lograr la alineación para los propósitos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos de diversas formas que están dentro de la habilidad en la técnica, por ejemplo, usando un programa informático disponible públicamente, tal como el programa informático BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr la máxima alineación sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Sin embargo, para los propósitos en el presente documento, se generan valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2 se creó por Genentech, Inc., y el código fuente se ha presentado con la documentación de usuario en la Oficina de Derechos de Autor de EE. UU., Washington D.C., 20559, donde se ha registrado con el n.º de registro de derecho de autor de EE. UU. TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible públicamente de Genentech, Inc., South San Francisco, California, o se puede compilar a partir del código fuente. El programa ALIGN-2 se debe compilar para su uso en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Se establecen todos los parámetros de comparación de secuencias por el programa ALIGN-2 y no varían. En situaciones donde se emplea ALIGN-2 para las comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos A dada con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada (que, de forma alternativa, se puede parafrasear como una secuencia de aminoácidos A dada que tiene o comprende un determinado % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada) se calcula como sigue:

100 veces la fracción X/Y

donde X es el número de residuos aminoacídicos puntuados como emparejamientos idénticos por el programa de alineación de secuencias ALIGN-2 en esa alineación del programa de A y B, y donde Y es el número total de residuos aminoacídicos en B. Se apreciará que, si la longitud de la secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de la secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de A con respecto a B no igualará el % de identidad de secuencia de aminoácidos de B con respecto a A. A menos que se establezca específicamente de otro modo, todos los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usados en el presente documento se obtienen como se describe en el párrafo inmediatamente precedente usando el programa informático ALIGN-2.

El término "polinucleótido" se refiere a una molécula o construcción de ácido nucleico aislada, por ejemplo, ARN mensajero (ARNm), ARN derivado de virus o ADN de plásmido (ADNp). Un polinucleótido puede comprender un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace amida, tal como se encuentra en los ácidos peptidonucleicos (APN)). El término "molécula de ácido nucleico" se refiere a cualquiera de uno o más segmentos de ácido nucleico, por ejemplo, fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucleótido.

Por molécula de ácido nucleico o polinucleótido "aislado" se entiende una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN que se ha retirado de su entorno natural. Por ejemplo, un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido contenido en un vector se considera aislado para los propósitos de la presente invención. Otros ejemplos de un polinucleótido aislado incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células huésped heterógenas o polinucleótidos (parcial o sustancialmente) purificados en solución. Un polinucleótido aislado incluye una molécula polinucleotídica contenida en células que contienen normalmente la molécula polinucleotídica, pero la molécula polinucleotídica está presente de forma extracromosómica o en una localización cromosómica que es diferente de su localización cromosómica natural. Las moléculas de ARN aisladas incluyen transcritos de ARN *in vivo* o *in vitro* de la presente invención, así como formas de hebras positivas y negativas y formas bicatenarias. Los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados de acuerdo con la presente invención incluyen además dichas moléculas producidas sintéticamente. Además, un polinucleótido o un ácido nucleico puede ser o puede incluir un elemento regulador tal como un promotor, sitio de unión a ribosoma o un finalizador de la transcripción.

Por un ácido nucleico o polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos al menos, por ejemplo, un 95 % "idéntica" a una secuencia de nucleótidos de referencia de la presente invención se entiende que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido es idéntica a la secuencia de referencia excepto en que la secuencia polinucleotídica puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, para obtener un polinucleótido que tenga una secuencia de nucleótidos al menos un 95 % idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta un 5 % de los nucleótidos de la secuencia de referencia se pueden delecionar o sustituir por otro nucleótido, o un número de nucleótidos de hasta un 5 % de los nucleótidos totales de la

secuencia de referencia se puede insertar en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia se pueden producir en las posiciones terminales 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, intercaladas individualmente entre los residuos de la secuencia de referencia o bien en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Como una cuestión práctica, si cualquier secuencia polinucleotídica particular es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos de la presente invención, se puede determinar convencionalmente usando programas informáticos conocidos, tales como los analizados anteriormente para polipéptidos (por ejemplo, ALIGN-2).

El término "casete de expresión" se refiere a un polinucleótido generado de forma recombinante o sintética, con una serie de elementos de ácido nucleico especificados que permiten la transcripción de un ácido nucleico particular en una célula diana. El casete de expresión recombinante se puede incorporar en un plásmido, cromosoma, ADN mitocondrial, ADN de plástido, virus o fragmento de ácido nucleico. Típicamente, la porción de casete de expresión recombinante de un vector de expresión incluye, entre otras secuencias, una secuencia de ácido nucleico que se va a transcribir y un promotor. En determinados modos de realización, el casete de expresión de la invención comprende secuencias polinucleotídicas que codifican moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la invención o fragmentos de las mismas.

El término "vector" o "vector de expresión" es sinónimo de "construcción de expresión" y se refiere a una molécula de ADN que se usa para introducir y dirigir la expresión de un gen específico al que se asocia de forma funcional en una célula diana. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que se ha introducido. El vector de expresión de la presente invención comprende un casete de expresión. Los vectores de expresión permiten la transcripción de grandes cantidades de ARNm estable. Una vez que el vector de expresión está dentro de la célula diana, la molécula de ácido ribonucleico o proteína que está codificada por el gen se produce por el mecanismo de transcripción y/o traducción celular. En un modo de realización, el vector de expresión de la invención comprende un casete de expresión que comprende secuencias polinucleotídicas que codifican moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la invención o fragmentos de las mismas.

Los términos "célula huésped", "línea de células huésped" y "cultivo de células huésped" se usan de manera intercambiable y se refieren a células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la descendencia de dichas células. Las células huésped incluyen "transformantes" y "células transformadas", que incluyen la célula transformada primaria y la descendencia derivada de la misma independientemente del número de pases. La descendencia puede no ser completamente idéntica en contenido de ácido nucleico a una célula original, sino que puede contener mutaciones. La descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula transformada originalmente se incluye en el presente documento. Una célula huésped es cualquier tipo de sistema celular que se puede usar para generar las moléculas de unión a antígeno biespecíficas de la presente invención. Las células huésped incluyen células cultivadas, por ejemplo, células cultivadas de mamífero, tales como células CHO, células BHK, células NS0, células SP2/0, células de mieloma YO, células de mieloma de ratón P3X63, células PER, células PER.C6 o células de hibridoma, células de levadura, células de insecto y células vegetales, por nombrar solo algunas, pero también células comprendidas dentro de un animal transgénico, planta transgénica o tejido animal o vegetal cultivado.

Un "receptor de Fc activador" es un receptor de Fc que, después del acoplamiento por un dominio Fc de un anticuerpo, provoca acontecimientos de señalización que estimulan a la célula portadora del receptor para que realice funciones efectoras. Los receptores de Fc activadores humanos incluyen FcγRIIIa (CD16a), FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32) y FcαRI (CD89).

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) es un mecanismo inmunitario que da lugar a la lisis de células diana recubiertas de anticuerpo por células efectoras inmunitarias. Las células diana son células a las que se unen específicamente anticuerpos o derivados de los mismos que comprenden una región Fc, en general por medio de la parte proteica que es N terminal a la región Fc. Como se usa en el presente documento, el término "ADCC reducida" se define como una reducción en el número de células diana que se lisan en un tiempo dado, a una concentración de anticuerpo dada en el medio circundante a las células diana, por el mecanismo de ADCC definido anteriormente, y/o bien un incremento en la concentración de anticuerpo en el medio circundante a las células diana, requerido para lograr la lisis de un número dado de células diana en un tiempo dado, por el mecanismo de ADCC. La reducción en la ADCC es relativa a la ADCC mediada por el mismo anticuerpo producido por el mismo tipo de células huésped, usando los mismos procedimientos de producción, purificación, formulación y almacenamiento estándar (que son conocidos por los expertos en la técnica), pero que no se ha genomanipulado. Por ejemplo, la reducción en ADCC mediada por un anticuerpo que comprende en su dominio Fc una sustitución aminoacídica que reduce la ADCC es relativa a la ADCC mediada por el mismo anticuerpo sin esta sustitución aminoacídica en el dominio Fc. Los ensayos adecuados para medir la ADCC son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la publicación PCT n.º WO 2006/082515 o la solicitud de patente PCT n.º PCT/EP2012/055393).

Una "cantidad eficaz" de un agente se refiere a la cantidad que es necesaria para dar como resultado un cambio fisiológico en la célula o tejido al que se administra.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un agente, por ejemplo, una composición farmacéutica, se refiere a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente, por ejemplo, elimina, disminuye, retrasa, minimiza o previene efectos adversos de una enfermedad.

Un "individuo" o "sujeto" es un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En particular, el individuo o sujeto es un ser humano.

El término "composición farmacéutica" se refiere a una preparación que está en tal forma que permite que la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en la misma sea eficaz, y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se le administraría la formulación.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una composición farmacéutica, distinto de un ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un tampón, excipiente, estabilizante o conservante.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y variaciones gramaticales del mismo tales como "tratar" o "que trata") se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar la evolución natural de una enfermedad en el individuo que se está tratando, y se puede realizar para profilaxis o bien durante la evolución de la enfermedad clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero no se limitan a, prevención de la aparición o recidiva de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, prevención de metástasis, disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, mejora o atenuación del cuadro clínico y remisión o mejora del pronóstico. En algunos modos de realización, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para ralentizar la progresión de una enfermedad.

El término "prospecto del envase" se usa para referirse a las instrucciones incluidas habitualmente en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, politerapia, contraindicaciones y/o advertencias en relación con el uso de dichos productos terapéuticos.

Descripción detallada de los modos de realización

La presente invención proporciona moléculas de unión a antígeno biespecíficas diseñadas para la activación y redireccionamiento de linfocitos T, que combinan buena eficacia y producibilidad con procedimientos para preparar y hacer uso de las mismas. En particular, la presente invención se refiere a moléculas biespecíficas en las que al menos dos restos de unión tienen cadenas ligeras idénticas y, en algunos modos de realización, cadenas pesadas remodeladas correspondientes que confieren la unión específica a un antígeno biespecífico activador de linfocitos T y un antígeno de célula diana, respectivamente. El uso de este llamado principio de "cadena ligera común", es decir, la combinación de dos proteínas de unión que comparten una cadena ligera, pero que aún tienen especificidades separadas, evita el emparejamiento erróneo de las cadenas ligeras. Por tanto, existen menos productos secundarios durante la producción, lo que facilita la preparación homogénea de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T.

La presente invención se refiere en particular a una cadena ligera infrecuente predefinida que contribuye significativamente a la unión a antígeno y al emparejamiento heteromultimérico con diferentes compañeros de unión, por ejemplo, cadenas pesadas y fragmentos de las mismas. Esta cadena ligera común es, por tanto, adecuada para su uso en una colección a partir de la cual se pueden preparar nuevas moléculas de unión a antígeno biespecíficas o multiespecíficas. De forma ventajosa, la cadena ligera común usada en relación con las moléculas de unión a antígeno y los procedimientos divulgados en el presente documento se pueden usar para formar una molécula de unión a antígeno útil para la activación de linfocitos T. Un experto en la técnica puede admitir la eficacia ventajosa de tener dicha cadena ligera que pueda funcionar tanto en restos de unión a antígeno activador de linfocitos T como en restos de unión a antígeno diana. Esto permite la producción eficaz de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T que comprenden el componente de activación de linfocitos T y un componente de unión a antígeno diana. En un modo de realización particular, la cadena ligera común es un dominio de cadena ligera constante lambda. En un modo de realización particular, la cadena ligera común es una cadena ligera lambda humana o humanizada. En un modo de realización particular, la cadena ligera común es de la familia de cadena ligera lambda 7 humana infrecuente. El uso de una cadena ligera de familia lambda, en particular, de la familia lambda 7 infrecuente fue un enfoque poco común y cabía esperar que disminuyera la probabilidad de identificar compañeros de unión de cadena pesada adecuados para crear moléculas de unión a antígeno específicas para una variedad de dianas. Por tanto, antes del trabajo del autor de la invención divulgado en el presente documento, no se sabía que una cadena ligera lambda 7 con propiedades adecuadas se podría desarrollar para una variedad de antígenos diana diferentes no relacionados, tales como, por ejemplo, FolR1, MUC1 y BCMA. Tampoco se sabía que se podría desarrollar una cadena ligera lambda para generar proteínas de unión estables, funcionales y de alta afinidad para mejorar la producción de

moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T con especificidad para CD3 y especificidad para un antígeno diana, donde los antígenos diana no están relacionados, por ejemplo, FolR1, MUC1 y BCMA. En un modo de realización, dicha cadena ligera común se puede usar para construir una colección de cadenas ligeras comunes (CLC) que se base en una proteína de unión a CD3 específica, no un anticuerpo de la línea germinal, para generar específicamente proteínas de unión de CD3 que contribuyan a la proteína de unión, como se describe a continuación. La ventaja de este enfoque es que permite mantener la proteína de unión a CD3 previamente identificada y validada, de modo que simplemente haya que identificar una nueva proteína de unión a antígeno diana para el resto de unión a antígeno diana de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T en base a la cadena pesada. Esto permite un enfoque modular para generar diferentes moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T con cadenas idénticas o altamente homólogas. Mientras que la cadena ligera es idéntica dentro de una molécula de unión a antígeno activadora de linfocitos T dada, las cadenas ligeras de diferentes moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T pueden ser idénticas o altamente homólogas. Por "altamente homólogas" se entiende que las cadenas ligeras de diferentes moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T producidas mediante este enfoque modular comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica. Preferentemente, las cadenas ligeras altamente homólogas de la invención tienen regiones de la cadena ligera variables idénticas y difieren solo en su región constante. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la variabilidad de aminoácidos está confinada a la región del conector. En algunos modos de realización, la cadena ligera común comprende un dominio de cadena ligera constante kappa.

Además de las ventajas anteriores, el rendimiento de moléculas heteromultiméricas correctamente emparejadas usando este enfoque se potencia, como se explica anteriormente, porque la cadena ligera usada dentro de los restos de unión a antígeno de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T es idéntica. Dicho de otra manera, el uso de una cadena ligera común facilita la producción de estas moléculas, ya que se elimina cualquier emparejamiento erróneo de una cadena ligera con la cadena pesada incorrecta. Por tanto, se facilita el aislamiento de una especie de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T altamente pura. En un modo de realización particular, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T usa Fab como componentes básicos. En comparación con otros formatos, el uso de fragmentos Fab como componentes básicos a diferencia de, por ejemplo, el uso de fragmentos scFv da como resultado una mayor estabilidad térmica y la ausencia de agregación de scFv y de formación de scFv intermolecular.

Antes del trabajo de los autores de la invención descrito en el presente documento, no se sabía que se pudiera generar una cadena ligera común que no solo sirviera como cadena ligera común en una molécula biespecífica o multiespecífica, sino que también respaldara la propiedad funcional de activación de linfocitos T de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. Además, antes del trabajo de los autores de la invención descrito en el presente documento, no se sabía que se pudiera generar una cadena ligera común que contribuya significativamente a las propiedades de unión a antígeno del resto de unión a antígeno dentro de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. Una estrategia bien establecida es identificar cadenas pesadas o fragmentos de las mismas que contribuyan a la mayoría de las propiedades de unión, tal como la fuerza y la especificidad. De acuerdo con la presente invención, la cadena ligera común contribuye significativamente a las propiedades de unión. En consecuencia, en un primer aspecto, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un primer y un segundo resto de unión a antígeno, en la que el primer resto de unión a antígeno comprende una primera cadena ligera y en la que el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, en la que el segundo resto de unión a antígeno comprende una segunda cadena ligera y en la que el segundo resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, en la que la secuencia de aminoácidos de la primera y la segunda cadena ligera es idéntica. En un modo de realización, el primer resto de unión a antígeno es un Fab. En un modo de realización, el segundo resto de unión a antígeno es un Fab. En un aspecto, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un primer y un segundo resto de unión a antígeno, uno de los cuales es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T y el otro de los cuales es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, en la que la primera y la segunda molécula Fab tienen cadenas ligeras idénticas (región de cadena ligera variable y cadena ligera constante, VLCL). En un modo de realización, la cadena ligera (VLCL) comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34. En un modo de realización, dicha cadena ligera (VLCL) idéntica comprende SEQ ID NO: 35.

Formatos de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T

Los componentes de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se pueden fusionar entre sí en una variedad de configuraciones. Las configuraciones ejemplares incluyen, pero no se limitan a, las representadas en las figuras 1A-D.

En algunos modos de realización, dicha molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende además un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad que se pueden asociar de manera estable. A continuación, se describen modos de realización ejemplares de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc. Todas estas moléculas de unión a antígeno

biespecíficas activadoras de linfocitos T comprenden al menos dos fragmentos Fab que tienen cadenas ligeras (VLCL) idénticas y que tienen cadenas pesadas (VHCL) diferentes que confieren las especificidades para dos antígenos diferentes, es decir, un fragmento Fab se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T y el otro fragmento Fab se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana.

En algunos modos de realización, el primer y el segundo resto de unión a antígeno de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusionan entre sí, opcionalmente por medio de un conector peptídico. En un modo de realización de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno. En otro modo de realización de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno. Aún en otro modo de realización de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena ligera de Fab al extremo N de la cadena ligera de Fab del primer resto de unión a antígeno. Aún en otro modo de realización de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena ligera de Fab al extremo N de la cadena ligera de Fab del segundo resto de unión a antígeno.

En un modo de realización, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o la segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización particular de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno. En un modo de realización específico de este tipo, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en un primer y un segundo resto de unión a antígeno que comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas, un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad, y opcionalmente uno o más conectores peptídicos, en la que el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno, y el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o la segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización alternativo de este tipo, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc. En un modo de realización específico de este tipo, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en un primer y un segundo resto de unión a antígeno que comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas, un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad, y opcionalmente uno o más conectores peptídicos, en la que el primer y el segundo resto de unión a antígeno se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc.

Aún en otro modo de realización de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena ligera de Fab al extremo N de la cadena ligera de Fab del primer resto de unión a antígeno. En un modo de realización específico de este tipo, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en un primer y un segundo resto de unión a antígeno que comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas, un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad, y opcionalmente uno o más conectores peptídicos, en la que el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo N de la cadena ligera de Fab al extremo C de la cadena ligera de Fab del segundo resto de unión a antígeno, y el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o la segunda subunidad del dominio Fc.

En otros modos de realización, el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización particular de este tipo, el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno. En un modo de realización específico de este tipo, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en un primer y un segundo resto de unión a antígeno que comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas, un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad, y opcionalmente uno o más conectores peptídicos, en la que el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno, y el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o la segunda subunidad del dominio Fc.

En particular en estos modos de realización, el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T. En otros modos de realización, el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana.

Los restos de unión a antígeno se pueden fusionar al dominio Fc o entre sí directamente o a través de un conector peptídico, que comprende uno o más aminoácidos, típicamente aproximadamente 2-20 aminoácidos. Los conectores

peptídicos son conocidos en la técnica y se describen en el presente documento. Los conectores peptídicos no inmunogénicos adecuados incluyen, por ejemplo, los conectores peptídicos $(G_4S)_n$ (SEQ ID NO: 41), $(SG_4)_n$ (SEQ ID NO: 42), $(G_4S)_n$ (SEQ ID NO: 41) o $G_4(SG_4)_n$ (SEQ ID NO: 43), siendo "n", en general, un número entre 1 y 10, típicamente entre 2 y 4. Un conector peptídico adecuado en particular para fusionar las cadenas ligeras de Fab del primer y el segundo resto de unión a antígeno entre sí es $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO: 44). Adicionalmente, los conectores pueden comprender (una porción de) una región bisagra de inmunoglobulina. En particular, cuando un resto de unión a antígeno se fusiona al extremo N de una subunidad del dominio Fc, se puede fusionar por medio de una región bisagra de inmunoglobulina o una porción de la misma, con o sin un conector peptídico adicional.

Una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T con un único resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana es útil, en particular en casos donde se espera internalización del antígeno de célula diana después de la unión de un resto de unión a antígeno de alta afinidad. En dichos casos, la presencia de más de un resto de unión a antígeno específico para el antígeno de célula diana puede potenciar la internalización del antígeno de célula diana, reduciendo de este modo su disponibilidad.

En muchos otros casos, sin embargo, será ventajoso tener una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dos o más restos de unión a antígeno específicos para un antígeno de célula diana, por ejemplo, para optimizar la dirección al sitio diana o para permitir la reticulación de antígenos de células diana.

En consecuencia, en determinados modos de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención comprende además un tercer resto de unión a antígeno que es una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana. En un modo de realización, el tercer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente al mismo antígeno de célula diana que el primer o segundo resto de unión a antígeno. En un modo de realización particular, el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, y el segundo y tercer resto de unión a antígeno se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana. En un modo de realización preferente, el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas.

En un modo de realización, el tercer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera o segunda subunidad del dominio Fc.

En un modo de realización, el primer y el tercer resto de unión a antígeno se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc, y el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno. En un modo de realización específico de este tipo, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en un primer, un segundo y un tercer resto de unión a antígeno (fragmento Fab), un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad, y opcionalmente uno o más conectores peptídicos, en la que el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno, y el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la primera subunidad del dominio Fc, y en la que el tercer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la segunda subunidad del dominio Fc. Preferentemente, en dicho modo de realización, el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, y el segundo y tercer resto de unión a antígeno se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana, en el que el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son fragmentos Fab que comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas.

En un modo de realización, el segundo y el tercer resto de unión a antígeno se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc, y el primer resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del segundo resto de unión a antígeno.

En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste esencialmente en una molécula de inmunoglobulina que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, y una molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, fusionada al extremo N de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente por medio de un conector peptídico. Preferentemente, en dicho modo de realización, la molécula de inmunoglobulina que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana y la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T comprenden cadenas ligeras (VLCL) idénticas.

El primer y el tercer resto de unión a antígeno (o el segundo y el tercer resto de unión a antígeno, respectivamente) se pueden fusionar al dominio Fc directamente o a través de un conector peptídico. En un modo de realización particular, el primer y el tercer resto de unión a antígeno (o el segundo y el tercer resto de unión a antígeno, respectivamente) se fusionan cada uno al dominio Fc a través de una región bisagra de inmunoglobulina.

En un modo de realización específico, la región bisagra de inmunoglobulina es una región bisagra de IgG_1 humana. En un modo de realización, el primer y el tercer resto de unión a antígeno (o el segundo y el tercer resto de unión a

antígeno, respectivamente) y el dominio Fc forman parte de una molécula de inmunoglobulina. En un modo de realización particular, la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la clase IgG. En un modo de realización incluso más particular, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la subclase IgG_1. En otro modo de realización, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina de la subclase IgG_4. En otro modo de realización particular, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina humana. En otros modos de realización, la inmunoglobulina es una inmunoglobulina quimérica o una inmunoglobulina humanizada.

Dominio Fc

El dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T consiste en un par de cadenas polipeptídicas que comprenden dominios de la cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina. Por ejemplo, el dominio Fc de una molécula de inmunoglobulina G (IgG) es un dímero, del que cada unidad comprende los dominios constantes de la cadena pesada de IgG CH2 y CH3. Las dos subunidades del dominio Fc se pueden asociar de manera estable entre sí. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención comprende no más de un dominio Fc.

En un modo de realización de acuerdo con la invención, el dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T es un dominio Fc de IgG. En un modo de realización particular, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_1. En otro modo de realización, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4. En un modo de realización más específico, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_4 que comprende una sustitución aminoacídica en la posición S228 (numeración de Kabat), en particular la sustitución aminoacídica S228P. Esta sustitución aminoacídica reduce el intercambio *in vivo* en el brazo Fab de los anticuerpos IgG_4 (véase Stubenrauch *et al*., Drug Metabolism and Disposition 38, 84-91 (2010)). En otro modo de realización particular, el dominio Fc es humano.

Modificaciones en el dominio Fc que promueven la heterodimerización

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de acuerdo con la invención comprenden diferentes restos de unión a antígeno, fusionados a una o a la otra de las dos subunidades del dominio Fc, por tanto, las dos subunidades del dominio Fc están comprendidas típicamente en dos cadenas polipeptídicas no idénticas. La coexpresión recombinante de estos polipéptidos y la posterior dimerización dan lugar a varias combinaciones posibles de los dos polipéptidos. Para mejorar el rendimiento y la pureza de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T en producción recombinante, será ventajoso, por tanto, introducir en el dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T una modificación que promueva la asociación de los polipéptidos deseados.

En consecuencia, en modos de realización particulares, el dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de acuerdo con la invención comprende una modificación que promueve la asociación de la primera y la segunda subunidad del dominio Fc. El sitio de interacción proteína-proteína más extensa entre las dos subunidades de un dominio Fc de IgG humana está en el dominio CH3 del dominio Fc. Por tanto, en un modo de realización, dicha modificación está en el dominio CH3 del dominio Fc.

En un modo de realización específico, dicha modificación es una modificación llamada "botón en ojal", que comprende una modificación de "botón" en una de las dos subunidades del dominio Fc y una modificación de "ojal" en la otra de las dos subunidades del dominio Fc.

La tecnología de botón en ojal se describe, por ejemplo, en los documentos US 5.731.168; US 7.695.936; Ridgway *et al*., Prot Eng 9, 617-621 (1996) y Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001). En general, el procedimiento implica introducir una protuberancia ("botón") en la interfase de un primer polipéptido y una cavidad correspondiente ("ojal") en la interfase de un segundo polipéptido, de modo que la protuberancia se puede situar en la cavidad para promover la formación de heterodímeros y dificultar la formación de homodímeros. Las protuberancias se construyen reemplazando cadenas laterales de aminoácidos pequeñas de la interfase del primer polipéptido por cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean cavidades compensadoras de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en la interfase del segundo polipéptido reemplazando cadenas laterales de aminoácido grandes por otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina).

En consecuencia, en un modo de realización particular, en el dominio CH3 de la primera subunidad del dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se reemplaza un residuo aminoacídico por un residuo aminoacídico que tiene un volumen de cadena lateral más grande, generando de este modo una protuberancia dentro del dominio CH3 de la primera subunidad que se puede colocar en una cavidad dentro del dominio CH3 de la segunda subunidad, y en el dominio CH3 de la segunda subunidad del dominio Fc se reemplaza un residuo aminoacídico por un residuo aminoacídico que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño, generando de este modo una cavidad dentro del dominio CH3 de la segunda subunidad dentro de la que se puede colocar la protuberancia dentro del dominio CH3 de la primera subunidad.

La protuberancia y la cavidad se pueden realizar alterando el ácido nucleico que codifica los polipéptidos, por ejemplo, por mutagénesis específica de sitio o por síntesis peptídica.

En un modo de realización específico, en el dominio CH3 de la primera subunidad del dominio Fc se reemplaza el residuo de treonina en la posición 366 por un residuo de triptófano (T366W), y en el dominio CH3 de la segunda subunidad del dominio Fc se reemplaza el residuo de tirosina en la posición 407 por un residuo de valina (Y407V). En un modo de realización, en la segunda subunidad del dominio Fc adicionalmente se reemplaza el residuo de treonina en la posición 366 por un residuo de serina (T366S) y se reemplaza el residuo de leucina en la posición 368 por un residuo de alanina (L368A).

Aún en otro modo de realización, en la primera subunidad del dominio Fc se reemplaza adicionalmente el residuo de serina en la posición 354 por un residuo de cisteína (S354C), y en la segunda subunidad del dominio Fc se reemplaza adicionalmente el residuo de tirosina en la posición 349 por un residuo de cisteína (Y349C). La introducción de estos dos residuos de cisteína da como resultado la formación de un puente disulfuro entre las dos subunidades del dominio Fc, estabilizando adicionalmente el dímero (Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001)).

En un modo de realización particular, el resto de unión a antígeno que se puede unir a un antígeno activador de linfocitos T se fusiona (opcionalmente por medio del resto de unión a antígeno que se puede unir a un antígeno de célula diana) a la primera subunidad del dominio Fc (que comprende la modificación de "botón"). Sin quedar vinculado a ninguna teoría, la fusión del resto de unión a antígeno que se puede unir a un antígeno activador de linfocitos T a la subunidad que contiene un botón del dominio Fc minimizará (además) la generación de moléculas de unión a antígeno que comprenden dos restos de unión a antígeno que se pueden unir a un antígeno activador de linfocitos T (impedimento estérico de dos polipéptidos que contienen botón).

En un modo de realización alternativo, una modificación que promueve la asociación de la primera y la segunda subunidad del dominio Fc comprende una modificación que media en los efectos de conducción electrostática, por ejemplo, como se describe en la publicación PCT WO 2009/089004. En general, este procedimiento implica el reemplazo de uno o más residuos aminoacídicos en la interfase de las dos subunidades del dominio Fc por residuos aminoacídicos cargados de modo que la formación de homodímeros se vuelve electrostáticamente desfavorable, pero la heterodimerización es electrostáticamente favorable.

Modificaciones en el dominio Fc que reducen la unión al receptor de Fc y/o la función efectora

El dominio Fc confiere a la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T propiedades farmacocinéticas favorables, incluyendo una semivida en suero larga que contribuye a una buena acumulación en el tejido diana y una proporción de distribución tejido-sangre favorable. Al mismo tiempo, sin embargo, puede dar lugar a la dirección indeseable de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T hacia células que expresan receptores de Fc en lugar de a las células portadoras de antígenos preferentes. Además, la coactivación de las rutas de señalización del receptor de Fc puede dar lugar a la liberación de citocinas lo que, en combinación con las propiedades activadoras de linfocitos T y la semivida larga de la molécula de unión a antígeno, da como resultado una activación excesiva de receptores de citocinas y efectos secundarios graves tras la administración sistémica. La activación de células inmunitarias (portadoras del receptor de Fc) distintas de linfocitos T incluso puede reducir la eficacia de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T debido a la destrucción potencial de linfocitos T, por ejemplo, por linfocitos NK.

En consecuencia, en modos de realización particulares, el dominio Fc de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de acuerdo con la invención presenta una afinidad de unión reducida por un receptor de Fc y/o función efectora reducida, en comparación con el dominio Fc de IgG_1 natural. En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc (o la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dicho dominio Fc) presenta menos de un 50 %, preferentemente menos de un 20 %, más preferentemente menos de un 10 % y lo más preferentemente menos de un 5 % de la afinidad de unión por un receptor de Fc, en comparación con un dominio Fc de IgG_1 natural (o una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc de IgG_1 natural), y/o menos de un 50 %, preferentemente menos de un 20 %, más preferentemente menos de un 10 % y lo más preferentemente menos de un 5 % de la función efectora, en comparación con un dominio Fc de IgG_1 natural (o una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc de IgG_1 natural). En un modo de realización, el dominio Fc (o la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dicho dominio Fc) no se une sustancialmente a un receptor de Fc y/o induce función efectora. En un modo de realización particular, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ. En un modo de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc humano. En un modo de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En un modo de realización específico, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ humano activador, más específicamente FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa humano, lo más específicamente FcγRIIIa humano. En un modo de realización, la función efectora es una o más seleccionada del grupo de CDC, ADCC, ADCP y secreción de citocinas. En un modo de realización particular, la función efectora es ADCC. En un modo de realización, el dominio Fc presenta una afinidad de unión sustancialmente similar al receptor de Fc neonatal (FcRn) en comparación con un dominio Fc de IgG_1 natural. Se logra una unión sustancialmente similar a FcRn cuando el dominio Fc (o la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dicho dominio Fc) presenta más de aproximadamente un 70 %, en particular más de aproximadamente un 80 %, más en particular más de aproximadamente un 90 % de la afinidad de unión de un dominio Fc de IgG_1 natural (o la molécula

de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc de IgG_1 natural) por FcRn.

En determinados modos de realización, el dominio Fc se genomanipula para que tenga afinidad de unión reducida por un receptor de Fc y/o función efectora reducida, en comparación con un dominio Fc no genomanipulado. En modos de realización particulares, el dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende una o más mutaciones aminoacídicas que reducen la afinidad de unión del dominio Fc por un receptor de Fc y/o función efectora. Típicamente, la misma o más mutaciones aminoacídicas están presentes en cada una de las dos subunidades del dominio Fc. En un modo de realización, la mutación aminoacídica reduce la afinidad de unión del dominio Fc por un receptor de Fc. En un modo de realización, la mutación aminoacídica reduce la afinidad de unión del dominio Fc por un receptor de Fc en al menos 2 veces, al menos 5 veces o al menos 10 veces. En modos de realización donde existe más de una mutación aminoacídica que reduce la afinidad de unión del dominio Fc por el receptor de Fc, la combinación de estas mutaciones aminoacídicas puede reducir la afinidad de unión del dominio Fc por un receptor de Fc en al menos 10 veces, al menos 20 veces o incluso al menos 50 veces. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc genomanipulado presenta menos de un 20 %, en particular menos de un 10 %, más en particular menos de un 5 % de la afinidad de unión por un receptor de Fc en comparación con una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc no genomanipulado. En un modo de realización particular, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ. En algunos modos de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc humano. En algunos modos de realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En un modo de realización específico, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ humano activador, más específicamente FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa humano, lo más específicamente FcγRIIIa humano. Preferentemente, se reduce la unión a cada uno de estos receptores. En algunos modos de realización también se reduce la afinidad de unión por un componente del complemento, específicamente la afinidad de unión por C1q. En un modo de realización, no se reduce la afinidad de unión por el receptor de Fc neonatal (FcRn). La unión sustancialmente similar a FcRn, es decir, la conservación de la afinidad de unión del dominio Fc por dicho receptor, se logra cuando el dominio Fc (o la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dicho dominio Fc) presenta más de aproximadamente un 70 % de la afinidad de unión de una forma no genomanipulada del dominio Fc (o la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende dicha forma no genomanipulada del dominio Fc) por FcRn. El dominio Fc, o las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención que comprenden dicho dominio Fc, pueden presentar más de aproximadamente un 80 % e incluso más de aproximadamente un 90 % de dicha afinidad. En determinados modos de realización, el dominio Fc de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se genomanipula para que tenga función efectora reducida, en comparación con un dominio Fc no genomanipulado. La función efectora reducida puede incluir, pero no se limita a, una o más de las siguientes: citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) reducida, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida, fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) reducida, secreción de citocinas reducida, captación de antígenos mediada por inmunocomplejos por células presentadoras de antígenos reducida, unión a linfocitos NK reducida, unión a macrófagos reducida, unión a monocitos reducida, unión a células polimorfonucleares reducida, señalización directa que induce apoptosis reducida, reticulación de anticuerpos unidos a diana reducida, maduración de células dendríticas reducida o activación de linfocitos T reducida. En un modo de realización, la función efectora reducida es una o más seleccionadas del grupo de CDC reducida, ADCC reducida, ADCP reducida y secreción de citocinas reducida. En un modo de realización particular, la función efectora reducida es ADCC reducida. En un modo de realización, la ADCC reducida es menor de un 20 % de la ADCC inducida por un dominio Fc no genomanipulado (o una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc no genomanipulado).

En un modo de realización, la mutación aminoacídica que reduce la afinidad de unión del dominio Fc por un receptor de Fc y/o función efectora es una sustitución aminoacídica. En un modo de realización, el dominio Fc comprende una sustitución aminoacídica en una posición seleccionada del grupo de E233, L234, L235, N297, P331 y P329. En un modo de realización más específico, el dominio Fc comprende una sustitución aminoacídica en una posición seleccionada del grupo de L234, L235 y P329. En algunos modos de realización, el dominio Fc comprende las sustituciones aminoacídicas L234A y L235A. En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_1, en particular un dominio Fc de IgG_1 humana. En un modo de realización, el dominio Fc comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329. En un modo de realización más específico, la sustitución aminoacídica es P329A o P329G, en particular, P329G. En un modo de realización, el dominio Fc comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329 y una sustitución aminoacídica adicional en una posición seleccionada de E233, L234, L235, N297 y P331. En un modo de realización más específico, la sustitución aminoacídica adicional es E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S. En modos de realización particulares, el dominio Fc comprende sustituciones aminoacídicas en las posiciones P329, L234 y L235. En modos de realización más particulares, el dominio Fc comprende las mutaciones aminoacídicas L234A, L235A y P329G ("P329G LALA"). En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG_1, en particular un dominio Fc de IgG_1 humana. La combinación "P329G LALA" de sustituciones aminoacídicas suprime casi completamente la unión al receptor de Fcγ de un dominio Fc de IgG_1 humana, como se describe en la solicitud de patente PCT n.º PCT/EP2012/055393. El documento PCT/EP2012/055393 también describe procedimientos de preparación de dichos dominios Fc mutantes y procedimientos para determinar sus propiedades tales como unión al receptor de Fc o funciones efectoras.

Los anticuerpos IgG_4 presentan una afinidad de unión reducida por receptores de Fc y funciones efectoras reducidas

en comparación con anticuerpos IgG_1. Por tanto, en algunos modos de realización, el dominio Fc de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención es un dominio Fc de IgG_1, en particular un dominio Fc de IgG_1 humana. En un modo de realización, el dominio Fc de IgG_1 comprende sustituciones aminoacídicas en la posición S228, específicamente la sustitución aminoacídica S228P. Para reducir más su afinidad de unión por un receptor de Fc y/o su función efectora, en un modo de realización, el dominio Fc de IgG_1 comprende una sustitución aminoacídica en la posición L235, específicamente la sustitución aminoacídica L235E. En otro modo de realización, el dominio Fc de IgG_1 comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329, específicamente la sustitución aminoacídica P329G. En un modo de realización particular, el dominio Fc de IgG_1 comprende sustituciones aminoacídicas en las posiciones S228, L235 y P329, específicamente las sustituciones aminoacídicas S228P, L235E y P329G. Dichos mutantes del dominio Fc de IgG_4 y sus propiedades de unión al receptor de Fcγ se describen en la solicitud de patente PCT n.º WO2012130831.

En un modo de realización particular, el dominio Fc que presenta afinidad de unión por un receptor de Fc reducida y/o una función efectora reducida en comparación con un dominio Fc de IgG_1 natural es un dominio Fc de IgG_1 humana que comprende las sustituciones aminoacídicas L234A, L235A y opcionalmente P329G, o un dominio Fc de IgG_1 humana que comprende las sustituciones aminoacídicas S228P, L235E y opcionalmente P329G.

En determinados modos de realización se ha eliminado la N-glucosilación del dominio Fc. En un modo de realización de este tipo, el dominio Fc comprende una mutación aminoacídica en la posición N297, en particular, una sustitución aminoacídica que reemplaza asparagina por alanina (N297A) o ácido aspártico (N297D).

Además de los dominios Fc descritos anteriormente en el presente documento y en la solicitud de patente PCT n.º WO2012130831, los dominios Fc con unión a receptor de Fc y/o función efectora reducidas también incluyen aquellos con sustitución de uno o más de los residuos 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 del dominio Fc (patente de EE. UU. n.º 6.737.056). Dichos mutantes de Fc incluyen mutantes de Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácido 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el llamado mutante de Fc "DANA" con sustitución de los residuos 265 y 297 por alanina (patente de EE. UU. n.º 7.332.581).

Se pueden preparar dominios Fc mutantes por deleción, sustitución, inserción o modificación de aminoácidos usando procedimientos genéticos o químicos bien conocidos en la técnica. Los procedimientos genéticos pueden incluir mutagénesis específica de sitio de la secuencia de ADN codificante, PCR, síntesis génica y similares. Los cambios nucleotídicos correctos se pueden verificar, por ejemplo, por secuenciación.

La unión a receptores de Fc se puede determinar fácilmente, por ejemplo, por ELISA, o por resonancia de plasmón superficial (SPR) usando instrumentación estándar tal como un instrumento BIAcore (GE Healthcare), y receptores de Fc tales como los que se pueden obtener por expresión recombinante. Un ensayo de unión de este tipo adecuado se describe en el presente documento. De forma alternativa, se puede evaluar la afinidad de unión de dominios Fc o moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos que comprenden un dominio Fc por los receptores de Fc usando líneas celulares conocidas por expresar receptores de Fc particulares, tales como linfocitos NK humanos que expresan el receptor de FcγIIIa.

La función efectora de un dominio Fc, o una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un dominio Fc, se puede medir por procedimientos conocidos en la técnica. Un ensayo adecuado para medir la ADCC se describe en el presente documento. Otros ejemplos de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés se describen en la patente de EE. UU. n.º 5.500.362; Hellstrom *et al*. Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986) y Hellstrom *et al*., Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985); patente de EE. UU. n.º 5.821.337; Bruggemann *et al*., J Exp Med 166, 1351-1361 (1987). De forma alternativa, se pueden emplear procedimientos de ensayos no radiactivos (véase, por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad no radiactivo ACTI™ para citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); y el ensayo de citotoxicidad no radiactivo CytoTox 96® (Promega, Madison, WI)). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) y linfocitos citolíticos naturales (NK). De forma alternativa, o adicionalmente, la actividad de ADCC de la molécula de interés se puede evaluar *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el divulgado en Clynes *et al*., Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998).

En algunos modos de realización, se reduce la unión del dominio Fc a un componente del complemento, específicamente a C1q. En consecuencia, en algunos modos de realización en los que se genomanipula el dominio Fc para que tenga una función efectora reducida, dicha función efectora reducida incluye una CDC reducida. Se pueden llevar a cabo ensayos de unión a C1q para determinar si la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se puede unir a C1q y, por tanto, tener actividad CDC. Véase, por ejemplo, ELISA de unión a C1q y C3c en los documentos WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación del complemento se puede realizar un ensayo de CDC (véase, por ejemplo, Gazzano-Santoro *et al*., J Immunol Methods 202, 163 (1996); Cragg *et al*., Blood 101, 1045-1052 (2003); y Cragg y Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004)).

Restos de unión a antígeno

La molécula de unión a antígeno de la invención es biespecífica, es decir, comprende al menos dos restos de unión a

antígeno que se pueden unir específicamente a dos determinantes antigénicos distintos. De acuerdo con un modo de realización de la invención, los restos de unión a antígeno son moléculas Fab (es decir, dominios de unión a antígeno compuestos de una cadena pesada y una ligera, cada una de las cuales comprende una región variable y una constante), en los que la cadena ligera (VLCL) de al menos dos moléculas Fab comprende secuencias idénticas. En un modo de realización, dicha cadena ligera VLCL de las moléculas Fab que se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana y un antígeno activador de linfocitos T, respectivamente, comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34.

En un modo de realización, dicha cadena ligera VLCL de las moléculas Fab que se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana y un antígeno activador de linfocitos T, respectivamente, comprende la SEQ ID NO: 31.

En un modo de realización, dichas moléculas Fab son humanas. En otro modo de realización, dichas moléculas Fab son humanizadas. Aún en otro modo de realización, dichas moléculas Fab comprenden regiones constantes de la cadena pesada y ligera humanas.

En un modo de realización particular de acuerdo con la invención, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se puede unir simultáneamente a un antígeno de célula diana, en particular un antígeno de célula tumoral, y un antígeno activador de linfocitos T. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T puede reticular un linfocito T y una célula diana uniéndose simultáneamente a un antígeno de célula diana y un antígeno activador de linfocitos T. En un modo de realización incluso más particular, dicha unión simultánea da como resultado la lisis de la célula diana, en particular una célula tumoral. En un modo de realización, dicha unión simultánea da como resultado la activación del linfocito T. En otros modos de realización, dicha unión simultánea da como resultado una respuesta celular de un linfocito T, en particular un linfocito T citotóxico, seleccionada del grupo de: proliferación, diferenciación, secreción de citocinas, liberación de moléculas efectoras citotóxicas, actividad citotóxica y expresión de marcadores de activación. En un modo de realización, la unión de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T al antígeno activador de linfocitos T sin unión simultánea al antígeno de la célula diana no da como resultado la activación del linfocito T.

En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T puede redireccionar la actividad citotóxica de un linfocito T hacia una célula diana. En un modo de realización particular, dicho redireccionamiento es independiente de la presentación de antígenos peptídicos mediada por MHC por la célula diana y/o la especificidad del linfocito T.

En particular, un linfocito T de acuerdo con cualquiera de los modos de realización de la invención es un linfocito T citotóxico. En algunos modos de realización, el linfocito T es un linfocito T $CD4^+$ o $CD8^+$, en particular un linfocito T $CD8^+$.

Resto de unión a antígeno activador de linfocitos T

La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención comprende al menos un resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T (también denominado en el presente documento "resto de unión a antígeno activador de linfocitos T"). En un modo de realización particular, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende no más de un resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T proporciona unión monovalente al antígeno activador de linfocitos T. El resto de unión a antígeno activador de linfocitos T es una molécula Fab y comprende una cadena ligera VLCL idéntica al resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana.

En un modo de realización particular, el antígeno activador de linfocitos T es CD3, en particular CD3 humano o CD3 de macaco cangrejero, lo más en particular CD3 humano. En un modo de realización particular, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T es reactiva de forma cruzada para (es decir, se une específicamente a) CD3 humano y de macaco cangrejero. En algunos modos de realización, el antígeno activador de linfocitos T es la subunidad épsilon de CD3 (SEQ ID NO: 56).

En un modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T puede competir con el anticuerpo monoclonal H2C (descrito en la publicación PCT n.º WO2008/119567) por la unión a un epítopo de CD3. En otro modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T puede competir con el anticuerpo monoclonal V9 (descrito en Rodrigues *et al*., Int J Cancer Suppl 7, 45-50 (1992) y la patente de EE. UU. n.º 6.054.297) por la unión a un epítopo de CD3. Aún en otro modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T puede competir con el anticuerpo monoclonal FN18 (descrito en Nooij *et al*., Eur J Immunol 19, 981-984 (1986)) por la unión a un epítopo de CD3. En un modo de realización particular, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T puede competir con el anticuerpo monoclonal SP34 (descrito en Pessano *et al*., EMBO J 4, 337-340 (1985)) por la unión a un epítopo de CD3. En un modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T se une al mismo epítopo de CD3 que el anticuerpo monoclonal SP34.

En un modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T comprende la CDR1 de la cadena pesada de SEQ ID NO: 14, la CDR2 de la cadena pesada de SEQ ID NO: 15, la CDR3 de la cadena pesada de SEQ ID NO: 16, la CDR1 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, la CDR2 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 33 y la CDR3 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 34. En otro modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T comprende una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a SEQ ID NO: 36, o a variantes de la misma que conservan la funcionalidad.

En otro modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T comprende una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a SEQ ID NO: 31, o a variantes de la misma que conservan la funcionalidad.

En un modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 36 y una cadena ligera que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 31.

En un modo de realización, el resto de unión a antígeno activador de linfocitos T comprende una cadena pesada de SEQ ID NO: 40 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 35.

Resto de unión a antígeno de célula diana

La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención comprende al menos un resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana (también denominado en el presente documento "resto de unión a antígeno de célula diana"). En determinados modos de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende dos restos de unión a antígeno que se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana. En un modo de realización particular de este tipo, cada uno de estos restos de unión a antígeno se une específicamente al mismo determinante antigénico. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende una molécula de inmunoglobulina que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende no más de dos restos de unión a antígeno que se pueden unir específicamente a un antígeno de célula diana. El resto de unión a antígeno de célula diana es en general una molécula Fab que se une a un determinante antigénico específico y puede dirigir la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T a un sitio diana, por ejemplo, a un tipo específico de célula tumoral que porta el determinante antigénico. Dicha molécula Fab tiene una cadena ligera VLCL idéntica a la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T. En un modo de realización preferente, dicha cadena ligera VLCL de la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana y la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T comprenden la CDR1 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, la CDR2 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 33 y la CDR3 de la cadena ligera de SEQ ID NO: 34. En un modo de realización preferente, dicha cadena ligera VLCL de la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana y la molécula Fab que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T comprenden una cadena ligera VLCL de SEQ ID NO. 31.

En otro modo de realización, el resto de unión a antígeno de célula diana comprende una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a SEQ ID NO: 31, o a variantes de la misma que conservan la funcionalidad.

En otro modo de realización, el resto de unión a antígeno de célula diana comprende una secuencia de la cadena ligera que es al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a SEQ ID NO: 35, o a variantes de la misma que conservan la funcionalidad.

En determinados modos de realización, el resto de unión a antígeno de célula diana se dirige a un antígeno asociado con una afección patológica, tal como un antígeno presentado en una célula tumoral. Los antígenos adecuados son antígenos de superficie celular, por ejemplo, pero sin limitarse a, receptores de superficie celular. En modos de realización particulares, el antígeno es un antígeno humano. En un modo de realización específico, el antígeno de célula diana es el receptor 1 de folato (FolR1).

En un aspecto específico, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleotídica que es al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 263, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 267 y SEQ ID NO: 272, incluyendo fragmentos funcionales o variantes de las mismas.

Polinucleótidos

La invención proporciona además polinucleótidos aislados que codifican una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención.

Los polinucleótidos incluyen aquellos que son al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idénticos a las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 263, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 267 y SEQ ID NO: 272, incluyendo fragmentos funcionales.

Los polinucleótidos que codifican moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se pueden expresar como un único polinucleótido que codifica toda la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T o como múltiples (por ejemplo, dos o más) polinucleótidos que se coexpresan. Los polipéptidos codificados por polinucleótidos que se coexpresan se pueden asociar a través de, por ejemplo, enlaces disulfuro u otros medios para formar una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T funcional. Por ejemplo, la porción de la cadena ligera de un resto de unión a antígeno se puede codificar por un polinucleótido separado de la porción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende la porción de la cadena pesada del resto de unión a antígeno, una subunidad del dominio Fc y opcionalmente (parte de) otro resto de unión a antígeno. Cuando se coexpresen, los polipéptidos de la cadena pesada se asociarán con los polipéptidos de la cadena ligera para formar el resto de unión a antígeno. En otro ejemplo, la porción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende una de las dos subunidades del dominio Fc y opcionalmente (parte de) uno o más restos de unión a antígeno se podría codificar por un polinucleótido separado de la porción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende la otra de las dos subunidades del dominio Fc y opcionalmente (parte de) un resto de unión a antígeno. Cuando se coexpresen, las subunidades del dominio Fc se asociarán para formar el dominio Fc.

En determinados modos de realización, el polinucleótido o ácido nucleico es ADN. En otros modos de realización, un polinucleótido de la presente invención es ARN, por ejemplo, en forma de ARN mensajero (ARNm). El ARN de la presente invención puede ser monocatenario o bicatenario.

Procedimientos recombinantes

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se pueden obtener, por ejemplo, por síntesis peptídica en estado sólido (por ejemplo, síntesis en fase sólida de Merrifield) o producción recombinante. Para la producción recombinante, uno o más polinucleótidos que codifican la molécula (fragmento) de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T, por ejemplo, como se describe anteriormente, se aíslan o insertan en uno o más vectores para clonación y/o expresión adicional en una célula huésped. Dicho polinucleótido se puede aislar y secuenciar fácilmente usando procedimientos convencionales. En un modo de realización se proporciona un vector, preferentemente un vector de expresión, que comprende uno o más de los polinucleótidos de la invención. Se pueden usar procedimientos que son bien conocidos por los expertos en la técnica para construir vectores de expresión que contienen la secuencia codificante de una molécula (fragmento) de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T junto con señales de control transcripcional/traduccional apropiadas. Estos procedimientos incluyen técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y recombinación *in vivo*/recombinación genética. Véanse, por ejemplo, las técnicas descritas en Maniatis *et al*., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989) y Ausubel *et al*., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y (1989). El vector de expresión puede ser parte de un plásmido, virus, o puede ser un fragmento de ácido nucleico. El vector de expresión incluye un casete de expresión en el que el polinucleótido que codifica la molécula (fragmento) de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T (es decir, la región codificante) se clona en asociación funcional con un promotor y/u otros elementos de control de la transcripción o traducción. Como se usa en el presente documento, una "región codificante" es una porción de ácido nucleico que consiste en codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de terminación" (TAG, TGA o TAA) no se traduce en un aminoácido, se puede considerar que es parte de una región codificante, si está presente; sin embargo, cualquier secuencia flanqueante, por ejemplo, promotores, sitios de unión a ribosoma, finalizadores transcripcionales, intrones, regiones no traducidas 5' y 3' y similares, no es parte de una región codificante. Dos o más regiones codificantes pueden estar presentes en una única construcción polinucleotídica, por ejemplo, en un único vector, o en construcciones polinucleotídicas separadas, por ejemplo, en vectores separados (diferentes). Además, cualquier vector puede contener una única región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo, un vector de la presente invención puede codificar uno o más polipéptidos, que se separan de forma postraduccional o cotraduccional en las proteínas finales por medio de escisión proteolítica. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico de la invención puede codificar regiones codificantes heterógenas, fusionadas o bien no fusionadas a un polinucleótido que codifica la molécula (fragmento) de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención. Las regiones codificantes heterógenas incluyen, sin limitación, elementos o motivos especializados, tales como un péptido señal secretor o un dominio funcional heterógeno. Una asociación funcional es cuando una región codificante de un producto génico, por ejemplo, un polipéptido, se asocia con una o más secuencias reguladoras de tal forma que sitúa la expresión del producto génico bajo la influencia o control de la(s) secuencia(s) reguladora(s). Dos fragmentos de ADN (tales como una región codificante de polipéptido y un promotor asociado con la misma) se "asocian de forma funcional" si la inducción de la función promotora da como resultado la transcripción de ARNm que codifica el producto génico deseado y si la naturaleza del enlace entre los dos fragmentos de ADN no interfiere con la capacidad de las secuencias reguladoras de la expresión de dirigir la expresión del producto génico ni interfiere con la capacidad del molde de ADN de transcribirse. Por tanto, una región promotora se asociaría de forma funcional con un ácido nucleico que codifica un

polipéptido si el promotor puede efectuar la transcripción de ese ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de célula que dirige la transcripción sustancial del ADN solo en células predeterminadas. Otros elementos de control de la transcripción, además de un promotor, por ejemplo, potenciadores, operadores, represores y señales de terminación de la transcripción, se pueden asociar de forma funcional con el polinucleótido para dirigir la transcripción específica de célula. En el presente documento se divulgan promotores adecuados y otras regiones de control de la transcripción. Es conocida una variedad de regiones de control de la transcripción por los expertos en la técnica. Estas incluyen, sin limitación, regiones de control de la transcripción, que funcionan en células de vertebrado, tales como, pero sin limitarse a, segmentos promotores y potenciadores de citomegalovirus (por ejemplo, el promotor temprano inmediato, conjuntamente con intrón-A), virus de simio 40 (por ejemplo, el promotor temprano) y retrovirus (tales como, por ejemplo, el virus del sarcoma de Rous). Otras regiones de control de la transcripción incluyen las derivadas de genes de vertebrados tales como actina, proteína de choque térmico, hormona del crecimiento bovina y â-globina de conejo, así como otras secuencias que pueden controlar la expresión génica en células eucariotas. Las regiones de control de la transcripción adecuadas adicionales incluyen promotores y potenciadores específicos de tejido, así como promotores inducibles (por ejemplo, promotores inducibles por tetraciclinas). De forma similar, es conocida una variedad de elementos de control de la traducción por los expertos en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, sitios de unión a ribosoma, codones de iniciación y terminación de la traducción y elementos derivados de sistemas víricos (en particular un sitio de entrada a ribosoma interno o IRES, también denominado secuencia CITE). El casete de expresión también puede incluir otros rasgos característicos tales como un origen de replicación y/o elementos de integración cromosómica tales como repeticiones terminales largas (LTR) retrovíricas o repeticiones terminales invertidas (ITR) víricas adenoasociadas (AAV).

Se pueden asociar regiones codificantes de polinucleótidos y ácidos nucleicos de la presente invención con regiones codificantes adicionales que codifican péptidos secretores o señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, si se desea la secreción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T, se puede disponer el ADN que codifica una secuencia señal en dirección 5' del ácido nucleico que codifica una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención o un fragmento de la misma. De acuerdo con la hipótesis de señal, las proteínas secretadas por células de mamífero tienen un péptido señal o secuencia líder secretora que se escinde de la proteína madura una vez que se ha iniciado la exportación de la cadena de proteína en crecimiento a través del retículo endoplásmico rugoso. Los expertos en la técnica saben que los polipéptidos secretados por células de vertebrado en general tienen un péptido señal fusionado al extremo N del polipéptido, que se escinde del polipéptido traducido para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En determinados modos de realización se usa el péptido señal natural, por ejemplo, un péptido señal de la cadena pesada o cadena ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional de esa secuencia que conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que está funcionalmente asociado con él. De forma alternativa, se puede usar un péptido señal de mamífero heterógeno o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia líder natural se puede sustituir por la secuencia líder del activador de plasminógeno tisular (TPA) humano o β-glucuronidasa de ratón.

El ADN que codifica una secuencia proteica corta que se podría usar para facilitar la posterior purificación (por ejemplo, una marca de histidina) o ayudar a marcar la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se puede incluir dentro de o en los extremos del polinucleótido que codifica la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T (fragmento).

En otro modo de realización se proporciona una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos de la invención. En determinados modos de realización se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vectores de la invención. Los polinucleótidos y vectores pueden incorporar cualquiera de los rasgos característicos, individualmente o en combinación, descritos en el presente documento en relación con polinucleótidos y vectores, respectivamente. En un modo de realización de este tipo, una célula huésped comprende (por ejemplo, se ha transformado o transfectado con) un vector que comprende un polinucleótido que codifica una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención. Como se usa en el presente documento, el término "célula huésped" se refiere a cualquier tipo de sistema celular que se puede genomanipular para generar las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención o fragmentos de las mismas. Las células huésped adecuadas para replicación y para sustentar la expresión de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T son bien conocidas en la técnica. Dichas células se pueden transfectar o traducir según sea apropiado con el vector de expresión particular y se pueden cultivar grandes cantidades de células que contienen vectores para sembrar fermentadores a gran escala para obtener cantidades suficientes de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para aplicaciones clínicas. Las células huésped adecuadas incluyen microorganismos procariotas, tales como *E. coli*, o diversas células eucariotas, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de insecto o similares. Por ejemplo, se pueden producir polipéptidos en bacterias, en particular cuando no se necesita glucosilación. Después de la expresión, se puede aislar el polipéptido a partir de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar adicionalmente. Además de procariotas, los microbios eucariotas tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican polipéptidos, incluyendo cepas de hongos y levaduras con rutas de glucosilación que se han "humanizado", dando como resultado la producción de un polipéptido con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano. Véase Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004), y Li *et al*., Nat Biotech 24, 210-215 (2006). Las células huésped adecuadas para la expresión de polipéptidos (glucosilados) también se derivan de

organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrado incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus, que se pueden usar conjuntamente con células de insecto, en particular para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. También se pueden utilizar cultivos de células vegetales como huéspedes. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.º 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 y 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas). También se pueden usar células de vertebrado como huéspedes. Por ejemplo, pueden ser útiles líneas celulares de mamífero que se adaptan para el cultivo en suspensión. Otros ejemplos de líneas de células huésped de mamífero útiles son línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293T como se describe, por ejemplo, en Graham et al., J Gen Virol 36, 59 (1977)), células de riñón de cría de hámster (BHK), células de Sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)), células de riñón de mono (CV1), células de riñón de mono verde africano (VERO-76), células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA), células de riñón canino (MDCK), células de hígado de rata búfalo (BRL 3A), células de pulmón humano (W138), células de hígado humano (Hep G2), células de tumor mamario de ratón (MMT 060562), células TRI (como se describe, por ejemplo, en Mather *et al*., Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)), células MRC 5 y células FS4. Otras líneas de células huésped de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células CHO-DHFR$^-$ (Urlaub *et al*., Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980)); y líneas celulares de mieloma tales como YO, NS0, P3X63 y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas de células huésped de mamífero adecuadas para la producción de proteínas, véase, por ejemplo, Yazaki y Wu, Methods in Molecular Biology, vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003). Las células huésped incluyen células cultivadas, por ejemplo, células cultivadas de mamífero, células de levadura, células de insecto, células bacterianas y células vegetales, por nombrar solo algunas, pero también células comprendidas dentro de un animal transgénico, planta transgénica o tejido animal o vegetal cultivado. En un modo de realización, la célula huésped es una célula eucariota, preferentemente una célula de mamífero, tal como una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula de riñón embrionario humano (HEK) o una célula linfoide (por ejemplo, célula Y0, NS0, Sp20).

Son conocidas en la técnica las tecnologías estándar para expresar genes exógenos en estos sistemas. Las células que expresan un polipéptido que comprende la cadena pesada o bien la ligera de un dominio de unión a antígeno tal como un anticuerpo se pueden genomanipular para que expresen también la otra de las cadenas de anticuerpo de modo que el producto expresado sea un anticuerpo que tiene tanto una cadena pesada como una ligera.

En un modo de realización se proporciona un procedimiento de producción de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de acuerdo con la invención, en el que el procedimiento comprende cultivar una célula huésped que comprende un polinucleótido que codifica la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención, en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T, y recuperar la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la célula huésped (o medio de cultivo de célula huésped).

Los componentes de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se fusionan genéticamente entre sí. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se puede diseñar de modo que sus componentes se fusionen directamente entre sí o indirectamente a través de una secuencia conectora. La composición y longitud del conector se pueden determinar de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica y se puede someter a prueba para determinar su eficacia. Ejemplos de secuencias conectoras entre diferentes componentes de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T se encuentran en las secuencias proporcionadas en el presente documento. También se pueden incluir secuencias adicionales para incorporar un sitio de escisión para separar los componentes individuales de la fusión si se desea, por ejemplo, una secuencia de reconocimiento de endopeptidasas.

En determinados modos de realización, el uno o más restos de unión a antígeno de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T comprenden al menos una región variable de anticuerpo que se puede unir a un determinante antigénico. Las regiones variables pueden formar parte de y derivar de anticuerpos naturales o no naturales y fragmentos de los mismos. Los procedimientos para producir anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Los anticuerpos no naturales se pueden construir usando síntesis de péptidos en fase sólida, se pueden producir de forma recombinante (por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.186.567) o se pueden obtener, por ejemplo, cribando colecciones combinatorias que comprendan cadenas pesadas variables y cadenas ligeras variables (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.969.108 concedida a McCafferty).

Se puede usar cualquier especie de anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o región variable animal en las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, dominios de unión a antígeno o regiones variables no limitantes útiles en la presente invención pueden ser de origen murino, primate o humano. Si la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T está destinada al uso en seres humanos, se puede usar una forma quimérica de anticuerpo en la que las regiones constantes del anticuerpo son de un ser humano. También se puede preparar una forma humanizada o totalmente humana del anticuerpo de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.565.332 concedida a Winter). La humanización se puede lograr mediante diversos

procedimientos incluyendo, pero sin limitarse a, (a) injertar las CDR no humanas (por ejemplo, anticuerpo donante) en regiones estructurales y constantes humanas (por ejemplo, anticuerpo receptor) con o sin conservación de residuos de la región estructural críticos (por ejemplo, los que son importantes para conservar buenas funciones de afinidad de unión a antígeno o de anticuerpo), (b) injertar solo las regiones determinantes de la especificidad (SDR o a-CDR; los residuos críticos para la interacción anticuerpo-antígeno) no humanas en regiones estructurales y constantes humanas, o (c) trasplantar todos los dominios variables no humanos completos, pero "enmascararlos" con una sección similar a humana mediante el reemplazo de residuos superficiales. Los anticuerpos humanizados y procedimientos para prepararlos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, Front Biosci 13, 1619-1633 (2008), y se describen además, por ejemplo, en Riechmann *et al*., Nature 332, 323-329 (1988); Queen *et al*., Proc Natl Acad Sci USA 86, 10029-10033 (1989); las patentes de EE. UU. n.º 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409; Jones *et al*., Nature 321, 522-525 (1986); Morrison *et al*., Proc Natl Acad Sci 81, 6851-6855 (1984); Morrison y Oi, Adv Immunol 44, 65-92 (1988); Verhoeyen *et al*., Science 239, 1534-1536 (1988); Padlan, Molec Immun 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri *et al*., Methods 36, 25-34 (2005) (que describen un injerto de SDR (a-CDR)); Padlan, Mol Immunol 28, 489-498 (1991) (que describe el "rebarnizado"); Dall'Acqua *et al*., Methods 36, 43-60 (2005) (que describe el "reordenamiento de FR"); y Osbourn *et al*., Methods 36, 61-68 (2005) y Klimka *et al*., Br J Cancer 83, 252-260 (2000) (que describe el enfoque de "selección guiada" al reordenamiento de FR). Se pueden producir anticuerpos humanos y regiones variables humanas usando diversas técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos humanos se describen en general en van Dijk y van de Winkel, Curr Opin Pharmacol 5, 368-74 (2001) y Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 450-459 (2008). Las regiones variables humanas pueden formar parte de y derivar de anticuerpos monoclonales humanos preparados por el procedimiento de hibridoma (véase, por ejemplo, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)). También se pueden preparar anticuerpos humanos y regiones variables humanas administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para que produzca anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a una exposición antigénica (véase, por ejemplo, Lonberg, Nat Biotech 23, 1117-1125 (2005)). También se pueden generar anticuerpos humanos y regiones variables humanas aislando secuencias de regiones variables de clones de Fv seleccionadas de colecciones de presentación en fagos derivadas de seres humanos (véase, por ejemplo, Hoogenboom *et al*. en Methods in Molecular Biology 178, 1-37 (O'Brien *et al*., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); y McCafferty *et al*., Nature 348, 552-554; Clackson *et al*., Nature 352, 624-628 (1991)). Típicamente, los fagos presentan fragmentos de anticuerpo, como fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o bien como fragmentos Fab.

En determinados modos de realización, los restos de unión a antígeno útiles en la presente invención se genomanipulan para que tengan una afinidad de unión potenciada de acuerdo con, por ejemplo, los procedimientos divulgados en la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. n.º 2004/0132066. La capacidad de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención de unirse a un determinante antigénico específico se puede medir a través de un ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) o bien otras técnicas conocidas por un experto en la técnica, por ejemplo, técnica de resonancia de plasmón superficial (analizada en un sistema BIACORE T100) (Liljeblad, *et al*., Glyco J 17, 323-329 (2000)) y ensayos de unión tradicionales (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)). Se pueden usar ensayos de competición para identificar un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o dominio variable que compite con un anticuerpo de referencia por unirse a un antígeno particular, por ejemplo, un anticuerpo que compite con el anticuerpo V9 por unirse a CD3. En determinados modos de realización, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítopo (por ejemplo, un epítopo lineal o uno conformacional) que se une mediante el anticuerpo de referencia. Se proporcionan procedimientos ejemplares detallados para cartografiar un epítopo al que se une un anticuerpo en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", en Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ). En un ensayo de competición ejemplar se incuba el antígeno inmovilizado (por ejemplo, CD3) en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo, anticuerpo V9) y un segundo anticuerpo no marcado que se somete a prueba para determinar su capacidad de competir con el primer anticuerpo por la unión al antígeno. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incuba el antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado, pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de la incubación en condiciones permisivas para la unión del primer anticuerpo al antígeno, se retira el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado. Si la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado se reduce sustancialmente en la muestra de prueba con relación a la muestra de control, entonces eso indica que el segundo anticuerpo está compitiendo con el primer anticuerpo por la unión al antígeno. Véase Harlow y Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T preparadas como se describe en el presente documento se pueden purificar por técnicas conocidas en la técnica tales como cromatografía de líquidos de alto rendimiento, cromatografía de intercambio iónico, electroforesis en gel, cromatografía de afinidad, cromatografía de exclusión por tamaño y similares. Las condiciones reales usadas para purificar una proteína particular dependerán, en parte, de factores tales como carga neta, hidrofobia, hidrofilia, etc., y serán evidentes para los expertos en la técnica. Para la purificación por cromatografía de afinidad se puede usar un anticuerpo, ligando, receptor o antígeno al que se une la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. Por ejemplo, para la purificación por cromatografía de afinidad de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención, se puede usar una matriz con proteína A o proteína G. Se pueden usar la cromatografía de afinidad con proteína A o G y la cromatografía de exclusión por tamaño secuenciales para aislar una molécula de unión a antígeno biespecífica

activadora de linfocitos T esencialmente como se describe en los ejemplos. Se puede determinar la pureza de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T por cualquiera de una variedad de procedimientos analíticos bien conocidos, incluyendo electroforesis en gel, cromatografía de líquidos de alta presión y similares. Por ejemplo, se demostró que las proteínas de fusión de la cadena pesada expresadas como se describe en los ejemplos estaban intactas y apropiadamente ensambladas como se demostró por SDS-PAGE reductora. Se resolvieron tres bandas aproximadamente a Mr 25.000, Mr 50.000 y Mr 75.000, correspondientes a los pesos moleculares predichos de la proteína de fusión de cadena ligera, cadena pesada y cadena pesada/cadena ligera de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T.

Ensayos

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T proporcionadas en el presente documento se pueden identificar, cribar o caracterizar para determinar sus propiedades físicas/químicas y/o actividades biológicas por diversos ensayos conocidos en la técnica.

Ensayos de afinidad

La afinidad de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T por un receptor de Fc o un antígeno diana se puede determinar de acuerdo con los procedimientos expuestos en los ejemplos por resonancia de plasmón superficial (SPR), usando instrumentación estándar tal como un instrumento BIAcore (GE Healthcare), y receptores o proteínas diana tales como los que se pueden obtener por expresión recombinante. De forma alternativa, la unión de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T para diferentes receptores o antígenos diana se puede evaluar usando líneas celulares que expresan el receptor o antígeno diana particular, por ejemplo, por citometría de flujo (FACS). Un modo de realización ilustrativo y ejemplar específico para medir la afinidad de unión se describe en lo que sigue y en los ejemplos a continuación.

De acuerdo con un modo de realización, se mide la K_D mediante resonancia de plasmón superficial usando una máquina BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25 °C.

Para analizar la interacción entre la porción Fc y los receptores de Fc, se captura el receptor de Fc recombinante con marca de His por un anticuerpo anti-Penta His (Qiagen) ("Penta His" divulgado como SEQ ID NO: 45) inmovilizado en chips CM5 y se usan las construcciones biespecíficas como analitos. En resumen, se activan chips de biosensor de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) con clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Se diluye el anticuerpo anti-Penta-His ("Penta His" divulgado como SEQ ID NO: 45) con acetato de sodio 10 mM, pH 5,0, a 40 µg/ml antes de la inyección a un caudal de 5 µl/min para lograr aproximadamente 6500 unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Después de la inyección del ligando, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos sin reaccionar. Posteriormente, se captura el receptor de Fc durante 60 s a 4 o 10 nM. Para las mediciones cinéticas, se inyectan diluciones en serie 1:4 de la construcción biespecífica (intervalo entre 500 nM y 4000 nM) en HBS-EP (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 0,05 %, pH 7,4) a 25 °C a un caudal de 30 µl/min durante 120 s.

Para determinar la afinidad por el antígeno diana, se capturan las construcciones biespecíficas por un anticuerpo específico anti-Fab humano (GE Healthcare) que se inmoviliza en una superficie de chip de sensor CM5 activado como se describe para el anticuerpo anti-Penta-His ("Penta His" divulgado como SEQ ID NO: 45). La cantidad final de proteína acoplada es de aproximadamente 12000 UR. Se capturan las construcciones biespecíficas durante 90 s a 300 nM. Se pasan los antígenos diana a través de las cubetas de lectura durante 180 s a un intervalo de concentración de 250 a 1000 nM con un caudal de 30 µl/min. Se supervisa la disociación durante 180 s.

Se corrigen las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia. Se usó la respuesta en situación de equilibrio para derivar la constante de disociación K_D por ajuste de curva no lineal de la isoterma de unión de Langmuir. Se calculan las velocidades de asociación (k_{as}) y velocidades de disociación (k_{dis}) usando un modelo de unión de Langmuir uno a uno sencillo (programa informático de evaluación BIACORE ® T100 versión 1.1.1) ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. Se calcula la constante de disociación en equilibrio (K_D) como la proporción k_{dis}/k_{as}. Véase, por ejemplo, Chen *et al*., J Mol Biol 293, 865-881 (1999).

Ensayos de actividad

Se puede medir la actividad biológica de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención por diversos ensayos como se describe en los ejemplos. Las actividades biológicas pueden incluir, por ejemplo, la inducción de proliferación de linfocitos T, la inducción de señalización en linfocitos T, la inducción de expresión de marcadores de activación en linfocitos T, la inducción de secreción de citocinas por linfocitos T, la inducción de lisis de células diana tales como células tumorales y la inducción de regresión tumoral y/o la mejora de la supervivencia.

Composiciones, formulaciones y vías de administración

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T proporcionadas en el presente documento, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los procedimientos terapéuticos a continuación. En un modo de realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T proporcionadas en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otro modo de realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T proporcionadas en el presente documento y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación.

Se proporciona además un procedimiento de producción de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención en una forma adecuada para su administración *in vivo*, comprendiendo el procedimiento (a) obtener una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de acuerdo con la invención, y (b) formular la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, con lo que se formula una preparación de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para su administración *in vivo*.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T disueltas o dispersadas en un vehículo farmacéuticamente aceptable. La expresión "farmacéutica o farmacológicamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que son, en general, atóxicas para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas, es decir, que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción indeseable cuando se administran a un animal, tal como, por ejemplo, un ser humano, según sea apropiado. La preparación de una composición farmacéutica que contiene al menos una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T y opcionalmente un ingrediente activo adicional será conocida por los expertos en la técnica en vista de la presente divulgación, como se ejemplifica por Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.ª ed. Mack Printing Company, 1990. Además, para administración a animales (por ejemplo, seres humanos), se entenderá que las preparaciones deben cumplir las normas de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza según se requiere por la Oficina de Normas biológicas de la FDA o las autoridades correspondientes en otros países. Las composiciones preferentes son formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos los disolventes, tampones, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, antioxidantes, proteínas, fármacos, estabilizantes de fármacos, polímeros, geles, aglutinantes, excipientes, agentes disgregantes, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, tintes, tales como materiales y combinaciones de los mismos, como se conocerá por un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.ª ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329). Excepto en la medida en que cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La composición puede comprender diferentes tipos de vehículos dependiendo de si se va a administrar en forma sólida, líquida o aerosol, y si es necesario que sea estéril para dichas vías de administración como inyección. Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la presente invención (y cualquier agente terapéutico adicional) se pueden administrar por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intraesplénica, intrarrenal, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, intravaginal, intrarrectal, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, mucosa, intrapericárdica, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, por inhalación (por ejemplo, inhalación de aerosol), inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada, bañando células diana directamente, a través de un catéter, a través de un lavado, en cremas, en composiciones lipídicas (por ejemplo, liposomas), o por otro procedimiento o cualquier combinación de lo anterior como sería conocido por un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.ª ed. Mack Printing Company, 1990). La administración parenteral, en particular inyección intravenosa, se usa más comúnmente para administrar moléculas polipeptídicas tales como las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención.

Las composiciones parenterales incluyen aquellas diseñadas para administración por inyección, por ejemplo, inyección subcutánea, intradérmica, intralesional, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal o intraperitoneal. Para inyección, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. La solución puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. De forma alternativa, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T pueden estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril sin pirógenos, antes de su uso. Se preparan soluciones inyectables estériles incorporando las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos de los otros ingredientes enumerados a continuación, según se requiera. Se puede conseguir fácilmente la esterilidad, por ejemplo, por filtración a través de membranas de filtración estériles. En general, se preparan dispersiones incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los otros ingredientes. En el caso de polvos estériles

para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferentes son técnicas de secado al vacío o liofilización que proporcionan un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de un medio líquido previamente filtrado estéril del mismo. Se debe tamponar adecuadamente el medio líquido si es necesario y volver isotónico el diluyente líquido en primer lugar antes de la inyección con solución salina o glucosa suficiente. La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y se debe conservar frente a la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Se apreciará que se debe mantener al mínimo la contaminación por endotoxinas hasta un nivel seguro, por ejemplo, menos de 0,5 ng/mg de proteína. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero no se limitan a: tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; glúcidos tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como polietilenglicol (PEG). Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener compuestos que incrementan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol, dextrano, o similares. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que incrementan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. Adicionalmente, se pueden preparar suspensiones de los compuestos activos como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleatos de etilo o triglicéridos, o liposomas.

Se pueden atrapar ingredientes activos en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de administración de fármaco coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en Remington's Pharmaceutical Sciences (18.ª ed. Mack Printing Company, 1990). Se pueden preparar preparaciones de liberación mantenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación mantenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el polipéptido, matrices que están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. En determinados modos de realización, se puede conseguir una absorción prolongada de una composición inyectable mediante el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Además de las composiciones descritas previamente, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T también se pueden formular como preparación de liberación lenta. Dichas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T se pueden formular con materiales hidrófobos o poliméricos adecuados (por ejemplo, como emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se pueden fabricar por medio de procedimientos de mezclado, disolución, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización convencionales. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o coadyuvantes fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de las proteínas en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T se pueden formular en una composición en forma de ácido o base libre, neutra o salina. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales que conservan sustancialmente la actividad biológica del ácido o base libre. Estas incluyen las sales de adición de ácido, por ejemplo, las formadas con los grupos amino libres de una composición proteínica, o que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como ácido acético, oxálico, tartárico o mandélico. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también se pueden derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico; o bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína. Las sales farmacéuticas tienden a ser más solubles en disolventes acuosos y otros disolventes próticos que las correspondientes formas de base libre.

Procedimientos y composiciones terapéuticas

Se puede usar cualquiera de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T proporcionadas en el presente documento en procedimientos terapéuticos. Se pueden usar moléculas de unión a

antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención como agentes inmunoterápicos, por ejemplo, en el tratamiento de cánceres.

Para su uso en procedimientos terapéuticos, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se formularían, dosificarían y administrarían de una manera consecuente con una buena práctica médica. Los factores que se deben tener en consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el procedimiento de administración, el programa de administración y otros factores conocidos por los médicos.

En un aspecto, se proporcionan moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención para su uso como medicamento. En otros aspectos, se proporcionan moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad. En determinados modos de realización se proporcionan moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento. En un modo de realización, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesite el mismo. En determinados modos de realización, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para su uso en un procedimiento de tratamiento de un individuo que tiene una enfermedad, que comprende administrar al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T. En determinados modos de realización, la enfermedad que se va a tratar es un trastorno proliferativo. En un modo de realización particular, la enfermedad es cáncer. En determinados modos de realización, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un antineoplásico si la enfermedad que se va a tratar es cáncer. En otros modos de realización, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para su uso en la inducción de lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral. En determinados modos de realización, la invención proporciona una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para su uso en un procedimiento de inducción de lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral, en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para inducir la lisis de una célula diana. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores es un mamífero, preferentemente un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención en la fabricación o preparación de un medicamento. En un modo de realización, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita el mismo. En otro modo de realización, el medicamento es para su uso en un procedimiento de tratamiento de una enfermedad que comprende administrar a un individuo que tiene la enfermedad una cantidad terapéuticamente eficaz del medicamento. En determinados modos de realización, la enfermedad que se va a tratar es un trastorno proliferativo. En un modo de realización particular, la enfermedad es cáncer. En un modo de realización, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un antineoplásico si la enfermedad que se va a tratar es cáncer. En otro modo de realización, el medicamento es para inducir la lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral. Todavía en otro modo de realización, el medicamento es para su uso en un procedimiento de inducción de lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral, en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del medicamento para inducir la lisis de una célula diana. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad. En un modo de realización, el procedimiento comprende administrar a un individuo que tiene dicha enfermedad una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención. En un modo de realización se administra una composición a dicho individuo, que comprende la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención en una forma farmacéuticamente aceptable. En determinados modos de realización, la enfermedad que se va a tratar es un trastorno proliferativo. En un modo de realización particular, la enfermedad es cáncer. En determinados modos de realización, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un antineoplásico si la enfermedad que se va a tratar es cáncer. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para inducir la lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral. En un aspecto, el procedimiento comprende poner en contacto una célula diana con una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención en presencia de un linfocito T, en particular un linfocito T citotóxico. En otro aspecto se proporciona un procedimiento para inducir la lisis de una célula diana, en particular una célula tumoral, en un individuo. En un aspecto de este tipo, el procedimiento comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T para inducir la lisis de una célula diana. En un modo de realización, un "individuo" es un ser humano.

En determinados modos de realización, la enfermedad que se va a tratar es un trastorno proliferativo, en particular cáncer. Los ejemplos no limitantes de cánceres incluyen cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer uterino, cáncer de cuello uterino, cáncer endometrial, cáncer esofágico, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer gástrico, cáncer de próstata, neoplasia hemática, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer de huesos y cáncer de riñón. Otros trastornos de proliferación celular que se pueden tratar usando una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, neoplasias localizadas en el(los)/la(s): abdomen, hueso, mama, aparato digestivo, hígado, páncreas, peritoneo, glándulas endocrinas (suprarrenal, paratiroidea, pituitaria, testículos, ovario, timo, tiroidea), ojo, cabeza y cuello, sistema nervioso (central y periférico), sistema linfático, aparato genital femenino, piel, tejidos blandos, bazo, región torácica y sistema urogenital. También se incluyen afecciones o lesiones precancerosas y metástasis de cáncer. En determinados modos de realización, el cáncer se elige del grupo que consiste en cáncer de células renales, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer cerebral, cáncer de cabeza y cuello. Un experto en la técnica admite fácilmente que en muchos casos la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T puede que no proporcione una cura, sino que solo proporcione un beneficio parcial. En algunos modos de realización, un cambio fisiológico que tiene algún beneficio también se considera terapéuticamente beneficioso. Por tanto, en algunos modos de realización, una cantidad de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que proporciona un cambio fisiológico se considera una "cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz". El sujeto, paciente o individuo que necesita tratamiento es típicamente un mamífero, más específicamente un ser humano.

En algunos modos de realización, una cantidad eficaz de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención se administra a una célula. En otros modos de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención se administra a un individuo para el tratamiento de enfermedad.

Para la prevención o tratamiento de enfermedad, la dosificación apropiada de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención (cuando se usa sola o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad que se va a tratar, la vía de administración, el peso corporal del paciente, el tipo de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T, la gravedad y evolución de la enfermedad, si la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se administra con propósitos preventivos o terapéuticos, intervenciones terapéuticas previas o coincidentes, la anamnesis y respuesta del paciente a la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T, y el criterio del médico especialista. El profesional responsable de su administración determinará, en cualquier caso, la concentración del/de los ingrediente(s) activo(s) en una composición y la(s) dosis apropiada(s) para el sujeto individual. En el presente documento se contemplan diversas pautas de dosificación que incluyen, pero sin limitarse a, administraciones únicas o múltiples durante diversos momentos, administración por inyección intravenosa rápida e infusión intermitente.

La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se administra de forma adecuada al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, aproximadamente de 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1 mg/kg - 10 mg/kg) de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T puede ser una dosificación candidata inicial para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, por una o más administraciones separadas, o por infusión continua. Una dosificación diaria típica podría variar de aproximadamente 1 µg/kg a 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, en general, se prolongaría el tratamiento hasta que se produjera una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosificación ejemplar de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T estaría en el intervalo de aproximadamente 0,005 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender de aproximadamente 1 microgramo/kg peso corporal, aproximadamente 5 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 10 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 50 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 100 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 200 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 350 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 500 microgramos/kg peso corporal, aproximadamente 1 miligramo/kg peso corporal, aproximadamente 5 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 10 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 50 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 100 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 200 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 350 miligramos/kg peso corporal, aproximadamente 500 miligramos/kg peso corporal, a aproximadamente 1000 mg/kg peso corporal o más por administración, y cualquier intervalo derivable de los mismos. En ejemplos no limitantes de un intervalo derivable de los números enumerados en el presente documento, se puede administrar un intervalo de aproximadamente 5 mg/kg peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg peso corporal, de aproximadamente 5 microgramos/kg peso corporal a aproximadamente 500 miligramos/kg peso corporal, etc., en base a los números descritos anteriormente. Por tanto, se pueden administrar al paciente una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas). Dichas dosis se pueden administrar de forma intermitente, por ejemplo, cada semana o cada tres semanas (por ejemplo, de modo que el paciente reciba de aproximadamente dos a aproximadamente veinte, o por ejemplo, aproximadamente seis dosis de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T). Se puede administrar una dosis inicial de carga mayor, seguida de una o más dosis menores. Sin embargo, pueden ser útiles otras pautas de dosificación. La progresión de este tratamiento se supervisa fácilmente por técnicas y ensayos convencionales.

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se usarán en general en una cantidad eficaz para lograr el propósito pretendido. Para su uso para tratar o prevenir un estado de enfermedad, las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se administran o se aplican en una cantidad terapéuticamente eficaz. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica, en especial en vista de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

Para la administración sistémica, se puede estimar inicialmente una dosis terapéuticamente eficaz a partir de ensayos *in vitro*, tales como ensayos de cultivo celular. A continuación, se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración en circulación que incluye la CI_{50} como se determina en cultivo celular. Se puede usar dicha información para determinar con más exactitud dosis útiles en seres humanos.

También se pueden estimar dosificaciones iniciales a partir de datos *in vivo*, por ejemplo, modelos animales, usando técnicas que se conocen bien en la técnica. Un experto en la técnica podría optimizar fácilmente la administración a seres humanos en base a los datos en animales.

La cantidad e intervalo de dosificación se pueden ajustar individualmente para proporcionar concentraciones plasmáticas de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T que sean suficientes para mantener un efecto terapéutico. Las dosificaciones de paciente habituales para administración por inyección varían de aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg/día, típicamente de aproximadamente 0,5 a 1 mg/kg/día. Se pueden lograr concentraciones plasmáticas terapéuticamente eficaces administrando múltiples dosis cada día. Las concentraciones en plasma se pueden medir, por ejemplo, por HPLC.

En los casos de administración local o captación selectiva, la concentración local eficaz de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T puede no estar relacionada con la concentración plasmática. Un experto en la técnica podrá optimizar dosificaciones locales terapéuticamente eficaces sin experimentación excesiva.

Una dosis terapéuticamente eficaz de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T descritas en el presente documento proporcionará en general beneficio terapéutico sin provocar toxicidad sustancial. La toxicidad y la eficacia terapéutica de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T se pueden determinar por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivo celular o animales de experimentación. Se pueden usar ensayos de cultivo celular y estudios en animales para determinar la DL_{50} (la dosis letal para un 50 % de una población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en un 50 % de una población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, que se puede expresar como la proporción DL_{50}/DE_{50}. Son preferentes las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T que presentan índices terapéuticos grandes. En un modo de realización, la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de acuerdo con la presente invención presenta un índice terapéutico alto. Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificaciones adecuadas para su uso en seres humanos. Preferentemente, la dosificación se encuentra dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de una variedad de factores, por ejemplo, la forma de dosificación empleada, la vía de administración utilizada, la afección del sujeto y similares. La formulación exacta, vía de administración y dosificación se pueden elegir por el médico individual en vista de la afección del paciente (véase, por ejemplo, Fingl *et al.*, 1975, en: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Cap. 1, p. 1).

El médico especialista para pacientes tratados con moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención sabrá cómo y cuándo finalizar, interrumpir o ajustar la administración debido a la toxicidad, a disfunción orgánica y similares. A la inversa, el médico especialista también sabrá ajustar el tratamiento a niveles mayores si la respuesta clínica no fuera adecuada (excluyendo la toxicidad). La magnitud de una dosis administrada en el abordaje del trastorno de interés variará con la gravedad de la afección que se va a tratar, con la vía de administración y similares. La gravedad de la afección, por ejemplo, se puede evaluar, en parte, por procedimientos de evaluación de pronóstico estándar. Además, la dosis y quizás la frecuencia de dosis también variarán de acuerdo con la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual.

Otros agentes y tratamientos

Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención se pueden administrar en combinación con uno o más de otros agentes en el tratamiento. Por ejemplo, una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención se puede coadministrar con al menos un agente terapéutico adicional. El término "agente terapéutico" engloba cualquier agente administrado para tratar un síntoma o enfermedad en un individuo que necesita dicho tratamiento. Dicho agente terapéutico adicional puede comprender cualquier ingrediente activo adecuado para la indicación particular que se está tratando, preferentemente los que tienen actividades complementarias que no se ven afectadas de manera adversa entre sí. En determinados modos de realización, un agente terapéutico adicional es un agente inmunomodulador, un agente citostático, un inhibidor de la adhesión celular, un agente citotóxico, un activador de la apoptosis celular o un agente que incrementa la sensibilidad

de las células a los inductores apoptóticos. En un modo de realización particular, el agente terapéutico adicional es un agente antineoplásico, por ejemplo, un alterador de los microtúbulos, un antimetabolito, un inhibidor de topoisomerasas, un intercalador de ADN, un agente alquilante, un tratamiento hormonal, un inhibidor de cinasas, un antagonista de receptores, un activador de la apoptosis de células tumorales o un agente antiangiogénico.

Dichos otros agentes están presentes de forma adecuada en combinación en cantidades que son eficaces para el propósito previsto. La cantidad eficaz de dichos otros agentes depende de la cantidad de molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T usada, el tipo de trastorno o tratamiento, y otros factores analizados anteriormente. Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T se usan en general en las mismas dosificaciones y con vías de administración como se describe en el presente documento, o aproximadamente de un 1 a un 99 % de las dosificaciones descritas en el presente documento, o en cualquier dosificación y por cualquier vía que se determine empírica/clínicamente como apropiada.

Dichas politerapias indicadas anteriormente engloban la administración combinada (donde dos o más agentes terapéuticos se incluyen en la misma composición o en composiciones separadas), y la administración separada, en cuyo caso se puede producir la administración de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención antes de, simultáneamente a y/o después de la administración del adyuvante y/o agente terapéutico adicional. Las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención también se pueden usar en combinación con radioterapia.

Artículos de fabricación

En otro aspecto de la invención se proporciona un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una ficha técnica o prospecto del envase en o asociado con el recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, bolsas de solución i.v., etc. Los recipientes se pueden formar a partir de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que por sí misma o combinada con otra composición es eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección y que puede tener un orificio de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tenga un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención. La ficha técnica o prospecto del envase indica que la composición se usa para tratar la afección de elección. Además, el artículo de fabricación puede comprender (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la invención; y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende otro agente citotóxico o terapéutico de otro modo. El artículo de fabricación en este modo de realización de la invención puede comprender además un prospecto del envase que indica que las composiciones se pueden usar para tratar una afección particular. De forma alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo (o tercer) recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyectables (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

Procedimientos de cribado

En el presente documento se describe la eficacia ventajosa del uso de una cadena ligera única o variantes altamente homólogas de la misma para procedimientos de identificación de regiones variables de la cadena pesada apropiadas para construir moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T. Para construir estas proteínas de unión, la cadena ligera no solo se debe poder emparejar con diversas cadenas pesadas para producir restos de unión de diferente especificidad, sino que también conserva la capacidad de formar un resto de unión que puede activar los linfocitos T a los que se une.

La cadena ligera descrita en el presente documento se puede usar como una cadena ligera común (CLC) para identificar regiones variables de la cadena pesada apropiadas, por ejemplo, cribando una colección de regiones variables de la cadena pesada. Esto permite mantener la proteína de unión a CD3 previamente identificada y validada, de modo que simplemente haya que identificar una nueva proteína de unión a antígeno diana para el resto de unión a antígeno diana de una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T.

En consecuencia, en otro aspecto se proporciona un procedimiento para identificar una cadena pesada variable para su uso en una molécula de unión a antígeno biespecífica que es específica para un antígeno de activación de linfocitos T y un antígeno de célula diana, que comprende la etapa de cribado de una colección combinatoria que comprende cadenas pesadas variables con una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34. En un aspecto, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31. En un aspecto, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35. Este procedimiento se puede usar para desarrollar proteínas de unión estables, funcionales y de alta afinidad para mejorar la producción de moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T con, por ejemplo,

especificidad para CD3 y una especificidad para antígeno diana, donde los antígenos diana no están relacionados, por ejemplo, FolR1, MUC1 y BCMA.

Ejemplos

Los siguientes son ejemplos de procedimientos y composiciones de la invención. Se entiende que se pueden poner en práctica otros modos de realización diversos, dada la descripción general proporcionada anteriormente.

Procedimientos generales Técnicas de ADN recombinante

Se usaron procedimientos estándar para manipular ADN como se describe en Sambrook *et al*., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1989. Se usaron los reactivos biológicos moleculares de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes. La información general con respecto a las secuencias de nucleótidos de las cadenas ligera y pesada de inmunoglobulinas humanas se da en: Kabat, E.A. *et al*., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.ª ed., publicación NIH n.º 91-3242.

Secuenciación de ADN

Las secuencias de ADN se determinaron mediante secuenciación estándar de doble hebra en Synergene (Schlieren).

Síntesis génica

Se generaron segmentos de genes deseados, cuando se requirió, por PCR usando moldes apropiados o bien se sintetizaron por Geneart AG (Regensburg, Alemania) a partir de oligonucleótidos sintéticos y productos de PCR por síntesis génica automatizada. En casos donde no estaba disponible ninguna secuencia génica exacta, se diseñaron cebadores oligonucleotídicos en base a las secuencias de los homólogos más cercanos y se aislaron los genes por RT-PCR del ARN que se origina en el tejido apropiado. Se clonaron los segmentos génicos flanqueados por sitios de escisión de endonucleasas de restricción singulares en vectores de clonación/secuenciación estándar. Se purificó el ADN plasmídico de bacterias transformadas y se determinó la concentración por espectroscopia UV. Se confirmó la secuencia de ADN de los fragmentos génicos subclonados por secuenciación de ADN. Se diseñaron segmentos génicos con sitios de restricción adecuados para permitir la subclonación en los respectivos vectores de expresión. Se diseñaron todas las construcciones con una secuencia de ADN del extremo 5' que codifica un péptido líder que dirige las proteínas para su secreción en células eucariotas.

Aislamiento de linfocitos pan T primarios humanos de PBMC

Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de bancos de sangre locales o de sangre fresca de donantes humanos sanos. En resumen, la sangre se diluyó con PBS estéril y se colocó cuidadosamente en una capa sobre un gradiente de Histopaque (Sigma, H8889). Después de la centrifugación durante 30 minutos a 450 x g a temperatura ambiente (freno desconectado), se desechó la parte del plasma que se encontraba por encima de la interfase que contenía los PBMC. Los PBMC se transfirieron a nuevos tubos Falcon de 50 ml y los tubos se rellenaron con PBS hasta un volumen total de 50 ml. La mezcla se centrifugó a temperatura ambiente durante 10 minutos a 400 x g (freno activado). El sobrenadante se desechó y el sedimento de PBMC se lavó dos veces con PBS estéril (etapas de centrifugación a 4 °C durante 10 minutos a 350 x g). La población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio RPMI1640 que contenía FCS al 10 % y L-alanil-L-glutamina al 1 % (Biochrom, K0302) a 37 °C, CO_2 al 5 % en la incubadora hasta el inicio del ensayo.

El enriquecimiento de linfocitos T a partir de PBMC se realizó usando el kit II de aislamiento de linfocitos pan T (Miltenyi Biotec n.º 130-091-156), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, los sedimentos celulares se diluyeron en 40 µl de tampón frío por 10 millones de células (PBS con BSA al 0,5 %, EDTA 2 mM, filtrado estéril) y se incubaron con 10 µl de cóctel de biotina-anticuerpo por 10 millones de células durante 10 min a 4 °C. Se añadieron 30 µl de tampón frío y 20 µl de microesferas magnéticas anti-biotina por 10 millones de células, y la mezcla se incubó durante otros 15 min a 4 °C. Las células se lavaron añadiendo 10-20x el volumen actual y una etapa de centrifugación posterior a 300 x g durante 10 min. Se resuspendieron hasta 100 millones de células en 500 µl de tampón. La separación magnética de linfocitos pan T humanos no marcados se realizó usando columnas LS (Miltenyi Biotec n.º 130-042-401) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La población de linfocitos T resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio AIM-V a 37 °C, CO_2 al 5 % en la incubadora hasta el inicio del ensayo (no más de 24 h).

Aislamiento de linfocitos T indiferenciados primarios humanos de PBMC

Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de bancos de sangre locales o de sangre fresca de donantes humanos sanos. El enriquecimiento de linfocitos T a partir de PBMC se realizó utilizando el kit de aislamiento de linfocitos T indiferenciados $CD8^+$ de Miltenyi Biotec (n.º 130-

093-244), de acuerdo con las instrucciones del fabricante, pero omitiendo la última etapa de aislamiento de los linfocitos T $CD8^+$ (véase también la descripción para el aislamiento de linfocitos pan T humanos primarios).

Aislamiento de linfocitos pan T murinos de esplenocitos

Se aislaron bazos de ratones C57BL/6, se transfirieron a un tubo en C GentleMACS (Miltenyi Biotech n.º 130-093-237) que contenía tampón MACS (PBS + BSA al 0,5 % + EDTA 2 mM) y se disociaron con el disociador GentleMACS para obtener suspensiones de células sueltas según las instrucciones del fabricante. La suspensión celular se pasó a través de un filtro de separación previa para eliminar las partículas de tejido no disociadas restantes. Después de la centrifugación a 400 x g durante 4 min a 4 °C, se añadió tampón de lisis ACK para lisar los eritrocitos (incubación durante 5 min a temperatura ambiente). Las células restantes se lavaron con tampón MACS dos veces, se contaron y se usaron para el aislamiento de linfocitos pan T murinos. La selección (magnética) negativa se realizó usando el kit de aislamiento de linfocitos pan T de Miltenyi Biotec (n.º 130-090-861), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La población de linfocitos T resultante se contó automáticamente (ViCell) y se usó inmediatamente para ensayos adicionales.

Aislamiento de PBMC primarios de macaco cangrejero de sangre heparinizada

Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad a partir de sangre fresca de donantes sanos de macaco cangrejero, como sigue: la sangre heparinizada se diluyó 1:3 con PBS estéril, y el medio Lymphoprep (Axon Lab n.º 1114545) se diluyó al 90 % con PBS estéril. Dos volúmenes de la sangre diluida se colocaron en una capa sobre un volumen del gradiente de densidad diluido y la fracción de PBMC se separó mediante centrifugación durante 30 min a 520 x g, sin freno, a temperatura ambiente. La banda de PBMC se transfirió a un tubo Falcon nuevo de 50 ml y se lavó con PBS estéril por centrifugación durante 10 min a 400 x g a 4 °C. Se realizó una centrifugación a baja velocidad para eliminar las plaquetas (15 min a 150 x g, 4 °C), y la población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se usó inmediatamente para ensayos adicionales.

Generación de antígeno ejemplar

El antígeno se expresa en dos versiones diferentes. Para una construcción que no contiene Fc, el dominio extracelular se fusiona con una marca de avidina-His unida a su extremo C. Para un antígeno que contiene Fc, se aplica una fusión de Fc que usa la tecnología de botón en ojal al extremo N de una parte de Fc heterodimérica (Merchant *et al*.) para tener solo una molécula de la proteína de interés por cada dímero de Fc. Esto se hace para evitar la formación de cualquier estructura dimérica artificial de la proteína de interés. La marca de avidina se une aquí al extremo C de Fc. Esas proteínas se pueden expresar fácilmente de forma transitoria en células de mamíferos como HEK o CHO, purificar mediante cromatografía de proteína A, biotinilar y se pueden unir a microesferas de estreptavidina para la selección de fagos por medio de la marca de avidina biotinilada de acuerdo con procedimientos estándar.

Maduración de la afinidad

La maduración de la afinidad de los fragmentos Fab procedentes de una colección de CLC se debe limitar a la cadena pesada solo, para conservar la cadena ligera de manera inalterada para conservar la afinidad de unión a CD3e. Dado que nuestra colección inicial está aleatorizada solo en la CDR3 de la cadena pesada, nos centramos en la etapa de maduración en las CDR 1 y 2. Para ello, diseñamos cebadores de PCR para cada región estructural que introdujeran la aleatorización en CDR1 y CDR2 por separado. Cada cebador se diseña para que se una a una de las seis regiones estructurales de la cadena pesada y se puede usar de forma genérica para cada clon de anticuerpo que proviene de esa colección de fagos en particular. El proceso de maduración se lleva a cabo como se describe por Knappik (Knappik *et al*., J. Mol. Biol. (2000) 296, 57-86) o por Steidl (S. Steidl *et al*., Molecular Immunology 46 (2008) 135-144).

Las rondas de selección (panning) de fagos se llevan a cabo como se describe anteriormente, con la diferencia de que se usan concentraciones del antígeno soluble de 2×10^{-8} M y se reducen hasta una concentración final de 2×10^{-10} M.

Clonación, producción, purificación y caracterización bioquímica de TCB CLC

Se subclonan las secuencias de ADN de la región variable de la cadena pesada y ligera resultantes sin cambio del marco de lectura con la cadena pesada constante o bien la cadena ligera constante preinsertada en el respectivo vector de expresión de mamífero receptor. La expresión del anticuerpo está dirigida por un promotor MPSV y lleva una secuencia señal poliA sintética en el extremo 3' de la CDS. Además, cada vector contiene una secuencia OriP de EBV para la expresión transitoria en células HEK293-EBNA. Como isotipos de anticuerpos se usan IgG1 P329G LALA o IgG4 SPLE PG.

Se produce la TCB CLC cotransfectando células HEK293-EBNA con los vectores de expresión de mamífero usando polietilenimina. Se transfectan las células con los correspondientes vectores de expresión en una proporción 1:1:3 ("vector de cadena pesada Fc(ojal)": "vector de cadena pesada Fc(botón)-FabCrossfab": "vector de cadena ligera

común").

Para la transfección, se cultivan células HEK293 EBNA en suspensión sin suero en medio de cultivo CD CHO. Para la producción en un matraz de agitación de 500 ml, se siembran 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección. Para la transfección, las células se centrifugan durante 5 min mediante 210 x g, el sobrenadante se reemplaza por 20 ml de medio CD CHO precalentado. Se mezclan vectores de expresión en 20 ml de medio CD CHO hasta una cantidad final de 200 g de ADN. Después de la adición de 540 µl, la solución de PEI se mezcla con una agitadora vorticial durante 15 s y posteriormente se incuba durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclan con la solución de ADN/PEI, se transfieren a un matraz de agitación de 500 ml y se incuban durante 3 horas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después del tiempo de incubación, se añaden 160 ml de medio F17 y las células se cultivan durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añade ácido valpórico 1 mM y medio Feed 1 al 7 %. Después de un cultivo de 7 días, se recoge el sobrenadante para la purificación mediante centrifugación durante 15 min a 210 x g, la solución se filtra en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm) y se añade acida de sodio hasta una concentración final de 0,01 % (p/v) y se mantiene a 4 °C.

La proteína secretada se purifica de los sobrenadantes del cultivo celular mediante cromatografía de afinidad usando proteína A. El sobrenadante se carga en una columna HiTrap Protein A HP (VC = 5 ml, GE Healthcare) equilibrada con 40 ml de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5. Se retira la proteína no unida lavando con al menos 10 volúmenes de columna de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5. La proteína diana se eluye usando un gradiente en 20 volúmenes de columna desde citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5 hasta citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 2,5. Se neutraliza la solución de proteína añadiendo 1/10 de fosfato de sodio 0,5 M, pH 8. Se concentra la proteína diana y se filtra antes de su carga en una columna HiLoad Superdex 200 (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, solución de cloruro de sodio 140 mM a pH 6,0.

Se determina la concentración de proteína de las muestras de proteínas purificadas midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos.

Se analizan la pureza y el peso molecular de las moléculas por análisis CE-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor. Se usa el sistema Caliper LabChip GXII (Caliper Life Sciences) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se usan 2 µg de muestra para los análisis.

Se analiza el contenido en agregado de las muestras de anticuerpo usando una columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh) en K_2HPO_4 25 mM, NaCl 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, NaN_3 al 0,02 % (p/v), tampón de migración a pH 6,7 a 25 °C.

Caracterización de TCB CLC en ensayos basados en células

Unión de TCB CLC a células que expresan CD3 y ECD de antígeno tumoral

La unión de TCB CLC se somete a prueba usando células tumorales que expresan el antígeno X de interés y una línea de linfocitos T inmortalizados que expresan CD3e (Jurkat). En resumen, las células se recogen, se cuentan, se comprueba su viabilidad y se resuspenden a 2 x 10^6 células/ml en tampón FACS (100 µl de PBS, BSA al 0,1 %). Se incuban 100 µl de suspensión celular (que contiene 0,2 x 10^6 células) en una placa de 96 pocillos de fondo redondo durante 30 min a 4 °C con concentraciones crecientes de TCB CLC (3 pM - 200 nM), se lava dos veces con PBS con BSA al 0,1 % frío, se reincuba durante otros 30 min a 4 °C con anticuerpo secundario caprino AffiniPure de fragmento F(ab')2 específico del fragmento Fcγ anti-IgG humana conjugado con PE (Jackson Immuno Research Lab PE n.º 109-116-170), se lava dos veces con PBS con BSA al 0,1 % frío y se analiza de inmediato por FACS usando un FACS Canto II (programa informático FACS Diva) eliminando las células vivas negativas para DAPI. Se obtienen curvas de unión usando GraphPadPrism5.

Ejemplo 1

Purificación de fusiones biotiniladas de Fc con receptor de folato

Para generar nuevos anticuerpos contra FolR1 humano, se generaron los siguientes antígenos y herramientas de cribado como proteínas de fusión de Fc monovalentes (el dominio extracelular (ECD) del antígeno unido a la región bisagra del Fc-botón que se coexpresa con una molécula de Fc-ojal). Los genes antigénicos se sintetizaron (Geneart, Regensburg, Alemania) en base a secuencias obtenidas de GenBank o SwissProt y se insertaron en vectores de expresión para generar proteínas de fusión con Fc-botón con una marca de avidina C terminal para biotinilación *in vivo* o *in vitro*. La biotinilación *in vivo* se logró mediante la coexpresión del gen birA bacteriano que codifica una biotina ligasa bacteriana durante la producción. La expresión de todos los genes se realizó bajo el control de un promotor MPSV quimérico en un plásmido que contiene un elemento oriP para el mantenimiento estable de los plásmidos en líneas celulares que contienen EBNA.

Para la preparación de las moléculas de fusión Fc/antígeno monoméricas biotiniladas, se cotransfectaron células HEK293 EBNA en suspensión en crecimiento exponencial con tres vectores que codifican los dos componentes de la proteína de fusión (cadenas botón en ojal), así como BirA, una enzima necesaria para la reacción de biotinilación. Los vectores correspondientes se usaron en una proporción de 9,5:9,5:1 ("ECD de antígeno-Fc botón-marca de avidina": "Fc ojal": "BirA").

Para la producción de proteínas en matraces de agitación de 500 ml, se sembraron 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección. Para la transfección, las células se centrifugaron durante 5 minutos a 210 x g y el sobrenadante se reemplazó por medio CD CHO precalentado. Los vectores de expresión se resuspendieron en 20 ml de medio CD CHO que contenía 200 µg de ADN vector. Después de la adición de 540 µl de polietilenimina (PEI), la solución se mezcló durante 15 segundos y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclaron con la solución de ADN/PEI, se transfirieron a matraz de agitación de 500 ml y se incubaron durante 3 horas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después de la incubación, se añadieron 160 ml de medio F17 y las células se cultivaron durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añadió ácido valproico 1 mM y medio Feed 1 (Lonza) al 7 % al cultivo. El medio de producción también se complementó con biotina 100 µM. Después de 7 días de cultivo, se recogió el sobrenadante celular mediante centrifugación de las células durante 15 min a 210 x g. La solución se filtró en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm), se complementó con acida de sodio a una concentración final del 0,01 % (p/v) y se mantuvo a 4 °C.

Las proteínas secretadas se purificaron de los sobrenadantes de cultivo celular mediante cromatografía de afinidad usando proteína A, seguida de una cromatografía de exclusión por tamaño. Para la cromatografía de afinidad, se cargó sobrenadante en una columna HiTrap Protein A HP (VC = 5 ml, GE Healthcare) equilibrada con 40 ml de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, pH 7,5. Se retiró la proteína no unida lavando con al menos 10 volúmenes de columna de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, pH 7,5. La proteína unida se eluyó usando un gradiente de pH lineal creado en 20 volúmenes de columna de citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 100 mM, glicina 100 mM, pH 3,0. A continuación, se lavó la columna con 10 volúmenes de columna de citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 100 mM, glicina 100 mM, pH 3,0.

El pH de las fracciones recogidas se ajustó añadiendo 1/10 (v/v) de fosfato de sodio 0,5 M, pH 8,0. Se concentró la proteína y se filtró antes de su carga en una columna HiLoad Superdex 200 (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, cloruro de sodio 140 mM, pH 6,0.

Se determinó la concentración de proteína midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos. La pureza y el peso molecular de la fusión FolR1-Fc se analizaron mediante electroforesis capilar-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor siguiendo las instrucciones del fabricante (instrumento Caliper LabChipGX, Perkin Elmer). Se analizó el contenido en agregado de las muestras usando una columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh) en K_2HPO_4 25 mM, NaCl 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, NaN_3 al 0,02 % (p/v), tampón de migración a pH 6,7 a 25 °C.

Las proteínas de fusión antígeno-Fc purificadas se analizaron mediante ensayos de resonancia de plasmón superficial usando anticuerpos disponibles comercialmente para confirmar la conformación correcta y natural de los antígenos (datos no mostrados).

Tabla 1: Antígenos producidos para aislamiento, selección y contraselección de anticuerpos contra FolR1 humano

Antígeno	**ECD (aa)**	**Número de acceso**	**Secuencia**	**SEQ ID NO**
FolR1 humano	25 - 234	P15328	RIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWR KNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGEMAPACKR HFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLC KEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAVG AACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRC IQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAM	227
FolR2 humano	17 - 230	P14207	TMCSAQDRTDLLNVCMDAKHHKTKPGPEDKLHDQCSP WKKNACCTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKMEPAC KRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVNQSWRKERFLDVP LCKEDCQRWWEDCHTSHTCKSNWHRGWDWTSGVNKCP AGALCRTFESYFPTPAALCEGLWSHSYKVSNYSRGSG RCIQMWFDSAQGNPNEEVARFYAAAMHVN	228
FolR3 humano	24 - 243	P41439	SARARTDLLNVCMNAKHHKTQPSPEDELYGQCSPWKK NACCTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKMEPTCKRH FIQDSCLYECSPNLGPWIRQVNQSWRKERILNVPLCK EDCERWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGINECPAGA LCSTFESYFPTPAALCEGLWSHSFKVSNYSRGSGRCI QMWFDSAQGNPNEEVAKFYAAAMNAGAPSRGIIDS	229

Antígeno	ECD (aa)	Número de acceso	Secuencia	SEQ ID NO
FolR1 murino	25 - 232	P35846	TRARTELLNVCMDAKHHKEKPGPEDNLHDQCSPWKTN SCCSTNTSQEAHKDISYLYRFNWNHCGTMTSECKRHF IQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERILDVPLCKE DCQQWWEDCQSSFTCKSNWHKGWNWSSGHNECPVGAS CHPFTFYFPTSAALCEEIWSHSYKLSNYSRGSGRCIQ MWFDPAQGNPNEEVARFYAEAMS	230
FolR1 de macaco	25 - 234	G7PR14	EAQTRTARARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQC RPWKKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGEMAP ACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLN VPLCKEDCERWWEDCRTSYCKSNWHKGWNWTSGFNKC PVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTYSYKVSNYSRGS GRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAMS	231

Tabla 2: Resumen del rendimiento y contenido final de monómero de las fusiones FolR-Fc.

Antígeno	Monómero [%] (SEC)	Rendimiento
huFolR1	100	30 mg/l
cyFolR1	100	32 mg/l
muFolR1	100	31 mg/l
huFolR2	100	16 mg/l
huFolR3	95	38 mg/l

Ejemplo 2

Generación de la cadena ligera común con especificidad para CD3ε

Las moléculas biespecíficas activadoras de linfocitos T descritas en el presente documento comprenden al menos un resto de unión a CD3. Este resto se puede generar inmunizando animales de laboratorio, cribando una colección de fagos o usando anticuerpos anti-CD3 conocidos. La cadena ligera común con especificidad para CD3ε se generó humanizando la cadena ligera de un anticuerpo murino anti-CD3ε original (CH2527). Para la humanización de un anticuerpo de origen no humano, los residuos de CDR del anticuerpo no humano (donante) tienen que trasplantarse a la región estructural de un anticuerpo humano (aceptador). En general, las secuencias de la región estructural aceptadora se seleccionan alineando la secuencia del donante con una colección de secuencias aceptadoras potenciales y eligiendo una que tenga una homología razonable con el donante o que muestre aminoácidos similares en algunas posiciones críticas para la estructura y la actividad. En el presente caso, la búsqueda de la región estructural aceptadora de anticuerpo se realizó alineando la secuencia del dominio VL de ratón del anticuerpo original con una colección de secuencias de la línea germinal humana y eligiendo la secuencia humana que mostró una identidad de secuencia alta. Sorprendentemente, se encontró una buena coincidencia en términos de homología de secuencia de la región estructural en una cadena ligera humana bastante poco frecuente perteneciente a la familia 7 de dominios V del tipo lambda, más precisamente, hVL_7_46 (nomenclatura IMGT, n.º acceso GenBank Z73674). Esta cadena ligera humana poco frecuente se eligió posteriormente como región estructural aceptadora para la humanización de la cadena ligera de CH2527. Las tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) del dominio variable de la cadena ligera de ratón se injertaron en esta región estructural aceptadora. Dado que la región estructural 4 no es parte de la región variable del gen V de la línea germinal, la alineación para esta región (elemento J) se realizó individualmente. Por tanto, se eligió la secuencia IGLJ3-02 para la humanización de esta cadena ligera. Se generaron trece variantes humanizadas (CH2527-VL7_46-1 a VL7_46-10, VL7_46-12 a VL7 46-14). Estas variantes difieren en los residuos de la región estructural (y combinaciones de los mismos) que se retromutaron a la secuencia del dominio V murino o en los residuos CDR (definición de Kabat) que se podían mantener idénticos a la secuencia de la línea germinal humana. Los siguientes residuos de región estructural fuera de las CDR se retromutaron a los residuos murinos en la variante del dominio VL humanizado final VL7_46-13 (residuos murinos enumerados): V36, E38, F44, G46, G49 y G57, respectivamente. El elemento J humano IGLJ3-02 era 100 % idéntico al elemento J del anticuerpo murino original.

Ejemplo 3

Evaluación por SPR de variantes humanizadas con especificidad para CD3ε

Las variantes de VL humanizadas se evaluaron como quimera en un formato clásico 2+1 (figura 1D), es decir, los

dominios V de la cadena ligera humanizada se emparejaron con dominios V de la cadena pesada murina. La evaluación por SPR se realizó en un instrumento ProteOn XPR36 (Bio-Rad). Más precisamente, las variantes se capturaron directamente del sobrenadante de cultivo en un chip sensor GLM derivatizado anti-Fab (anticuerpo caprino anti-IgG humana, específico del fragmento F(ab')2, Jackson ImmunoResearch) en orientación vertical. Los siguientes analitos posteriormente se inyectaron horizontalmente como concentraciones únicas para evaluar la unión a CD3ε humano y de macaco: huCD3ε(-1-26)-Fc(botón)-avi (ID807) 3 µM y cyCD3ε-(-1-26)-Fc(botón)-avi-Fc(ojal) (ID873) 2,5 µM, respectivamente. Las respuestas de unión se compararon cualitativamente con la unión de la construcción de control murina y se calificaron con + (unión comparable observada), +/- (unión reducida observada) y - (no se observó unión). El anticuerpo de captura se regeneró después de cada ciclo de captura de ligando y unión de analito y la construcción murina se reinyectó al final del estudio para confirmar la actividad de la superficie de captura. Los resultados se resumen en la tabla 3.

variante VL humanizada	unión a CD3ε
CH2527-VL_murina	+
CH2527-VL7_46-1	-
CH2527-VL7_46-2	-
CH2527-VL7_46-3	-
CH2527-VL7_46-4	-
CH2527-VL7_46-5	-
CH2527-VL7_46-6	-
CH2527-VL7_46-7	-
CH2527-VL7_46-8	-
CH2527-VL7_46-9	-
CH2527-VL7_46-10	-
CH2527-VL7_46-12	+/-
CH2527-VL7_46-13	**+**
CH2527-VL7_46-14	-

Tabla 3 Evaluación cualitativa de unión basada en SPR para las variantes de la cadena ligera humanizada combinadas con la cadena pesada murina de CH2527. Solo la variante de cadena ligera humanizada que se eligió finalmente, CH2527-VL7_46-13, resaltada en negrita, presentó una unión comparable a CD3ε humano y de macaco.

Ejemplo 4

Propiedades de la cadena ligera común humanizada con especificidad para CD3ε

La variante del dominio V de la cadena ligera que se eligió como la molécula inicial humanizada es VL7_46-13. Se determinó el grado de humanidad, es decir, la homología de secuencia del dominio V humanizado con la secuencia del dominio V de la línea germinal humana. Para VL7_46-13, la identidad de secuencia global con el homólogo de la línea germinal humana más cercano es de un 65 % antes de la humanización y de un 80 % después de ella. Omitiendo las regiones CDR, la identidad de secuencia es de un 92 % con respecto al homólogo de la línea germinal humana más cercano. Como se puede ver en la tabla 3, VL7_46-13 es la única variante VL humanizada de un panel de 13 variantes que mostró una unión comparable al anticuerpo murino original y también conservó su reactividad cruzada con el CD3ε de macaco. Este resultado indica que no era trivial humanizar el dominio VL murino sin perder afinidad de unión por CD3ε, lo que requería varias retromutaciones a los residuos de la región estructural murina (en particular G46) mientras se conservaba G24 en CDR1. Además, este resultado muestra que el dominio VL desempeña un papel fundamental en el reconocimiento de la diana. Es importante destacar que el dominio VL humanizado VL7_46-13 basado en una línea germinal humana poco frecuente perteneciente a la familia 7 de dominios V de tipo lambda y que conserva la afinidad y especificidad por CD3ε, también es adecuado para su uso como una cadena ligera común en colecciones de anticuerpos de presentación en fagos del formato Fab y permite la selección exitosa de especificidades novedosas, lo que facilita enormemente la generación y producción de moléculas biespecíficas que se unen a CD3ε y, por ejemplo, a una diana tumoral y que comparten la misma cadena ligera "común".

Ejemplo 5

Generación de una colección de anticuerpos de presentación en fagos usando una cadena ligera común de la línea germinal humana derivada de HVK1-39

Varios enfoques para generar anticuerpos biespecíficos que se asemejan a la IgG humana de longitud completa utilizan modificaciones en la región Fc que inducen la heterodimerización de dos cadenas pesadas distintas. Dichos ejemplos incluyen tecnologías de botón en ojal (Merchant *et al*., Nat Biotechnol. 1998 Jul; 16(7):677-81), SEED (Davis

et al., Protein Eng Des Sel. 2010 Abr; 23(4): 195-202) y conducción electrostática (Gunasekaran *et al*., J Biol Chem. 2010 Jun 18; 285(25): 19637-46). Aunque estos enfoques permiten la heterodimerización eficaz de dos cadenas pesadas distintas, el emparejamiento apropiado de cadenas ligeras y pesadas relacionadas sigue siendo un problema. El uso de una cadena ligera (LC) común puede resolver este problema (Merchant *et al*., Nat Biotech 16, 677-681 (1998)).

Aquí describimos la generación de una colección de anticuerpos para la presentación en un fago M13. Esencialmente, diseñamos una colección de múltiples regiones estructurales para la cadena pesada con una cadena ligera constante (o "común"). Esta colección está diseñada para generar anticuerpos multiespecíficos sin necesidad de usar tecnologías sofisticadas para evitar el emparejamiento erróneo de la cadena ligera.

El uso de una cadena ligera común permite facilitar la producción de estas moléculas, ya que ya no se produce un emparejamiento erróneo y se facilita el aislamiento de un anticuerpo biespecífico altamente puro. En comparación con otros formatos, el uso de fragmentos Fab como componentes básicos a diferencia de, por ejemplo, el uso de fragmentos scFv da como resultado una mayor estabilidad térmica y la ausencia de agregación de scFv y de formación de scFv intermolecular.

Generación de la colección

A continuación, se describe la generación de una colección de anticuerpos para la presentación en el fago M13. Esencialmente, diseñamos una colección de múltiples regiones estructurales para la cadena pesada con una cadena ligera constante (o "común").

Usamos estas cadenas pesadas en la colección (números de acceso GenBank entre paréntesis):

IGHV1-46*01 (X92343) (SEQ ID NO: 104),

IGHV1-69*06 (L22583), (SEQ ID NO: 105)

IGHV3-15*01 (X92216), (SEQ ID NO: 106)

IGHV3-23*01 (M99660), (SEQ ID NO: 107)

IGHV4-59*01 (AB019438), (SEQ ID NO: 108)

IGHV5-51*01 (M99686), (SEQ ID NO: 109)

Todas las cadenas pesadas usan IGHJ2 como elemento J, excepto IGHV1-69*06 que usa la secuencia IGHJ6. El diseño de la aleatorización incluyó la CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3. Para CDR-H1 y CDR-H2 se eligió una estrategia de aleatorización "suave", y los oligonucleótidos de aleatorización fueron tales que el codón para el aminoácido de la secuencia de la línea germinal estaba presente al 50 %. Todos los demás aminoácidos, excepto la cisteína, sumaban el 50 % restante. En CDR-H3, donde no hay aminoácidos en la línea germinal debido a la presencia del elemento D genético, se diseñaron oligonucleótidos que permiten el uso de insertos aleatorizados entre el elemento V y el elemento J de 4 a 9 aminoácidos de longitud. Los oligonucleótidos contenidos en su parte aleatorizada, por ejemplo, los tres aminoácidos G/Y/S, están presentes al 15 % cada uno, mientras que los aminoácidos A/D/T/R/P/L/V/N/W/F/I/E están presentes al 4,6 % cada uno.

Procedimientos ejemplares para la generación de colecciones de anticuerpos se describen en Hoogenboom *et al*., Nucleic Acids Res. 1991, 19, 4133-413; Lee *et al*., J. Mol. Biol. (2004) 340, 1073-1093.

La cadena ligera se deriva de la secuencia humana hVK1-39, y se usa de forma no modificada y no aleatorizada. Esto garantizará que se pueda usar la misma cadena ligera para otros proyectos sin modificaciones adicionales.

Selección de la colección ejemplar:

Las selecciones con todas las colecciones de maduración de la afinidad se llevan a cabo en solución de acuerdo con el siguiente procedimiento usando un dominio extracelular monomérico y biotinilado de un antígeno X diana.

1. 10^{12} partículas de fagómidos de cada colección se unen a antígeno soluble biotinilado 100 nM durante 0,5 h en un volumen total de 1 ml. 2. El antígeno biotinilado se captura y las partículas de fagos unidas específicamente se aíslan mediante la adición de ~5 x 10^7 microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina durante 10 min. 3. Las microesferas se lavan usando 5-10 x 1 ml de PBS/Tween20 y 5-10 x 1 ml de PBS. 4. La elución de las partículas de fagos se realiza por adición de 1 ml de TEA (trietilamina) 100 mM durante 10 min y neutralización mediante adición de 500 µl de Tris/HCl 1 M, pH 7,4 y 5. En rondas de selección posteriores se aplica la reinfección de las bacterias *E. coli* TG1 en crecimiento exponencial, la infección con el fago auxiliar VCSM13 y la posterior precipitación con PEG/NaCl de partículas de fagómidos. Las selecciones se llevan a cabo en 3-5 rondas usando concentraciones de antígeno

constantes o decrecientes (de 10^{-7} M a 2 x 10^{-9} M). En la ronda 2, la captura de los complejos antígeno-fago se realizó usando placas de neutravidina en lugar de microsesferas de estreptavidina. Todas las reacciones de unión se complementan con seroalbúmina bovina 100 nM o con leche desnatada en polvo para competir por los clones no deseados que surgen de la simple unión adhesiva de los anticuerpos al soporte plástico.

Las selecciones se llevan a cabo en tres o cuatro rondas usando concentraciones decrecientes del antígeno comenzando a partir de 100 nM y bajando hasta 5 nM en la ronda de selección final. Las proteínas de unión específicas se definen como señales aprox. 5 veces mayores que el fondo y se identifican mediante ELISA. Las proteínas de unión específicas se identifican mediante ELISA como sigue: Se recubren 100 µl de antígeno biotinilado 10 nM por pocillo en placas de neutravidina. Se añaden sobrenadantes bacterianos que contienen Fab y se detectan los Fab de unión por medio de sus marcas Flag usando un anticuerpo secundario anti-Flag/HRP. Los clones positivos en ELISA se expresan bacterianamente como fragmentos Fab solubles en formato de 96 pocillos y los sobrenadantes se someten a un experimento de cribado cinético mediante análisis SPR usando ProteOn XPR36 (BioRad). Se identifican los clones que expresan Fab con las constantes de afinidad más altas y se secuencian los fagómidos correspondientes. Para una caracterización adicional, las secuencias de Fab se amplifican mediante PCR a partir del fagómido y se clonan por medio de sitios de restricción apropiados en vectores de expresión de IgG1 humana para la producción en mamíferos.

Generación de una colección de anticuerpos de presentación en fagos usando una cadena ligera común específica para CD3ε humanizada

Aquí se describe la generación de una colección de anticuerpos para la presentación en el fago M13. Esencialmente, diseñamos una colección de múltiples regiones estructurales para la cadena pesada con una cadena ligera constante (o "común"). Esta colección se diseñó para la generación de anticuerpos biespecíficos de linfocitos T inactivos que contienen Fc, pero que se unen a FcgR, del isotipo IgG1 P329G LALA o IgG4 SPLE PG en los que uno o dos Fab reconocen un antígeno de superficie tumoral expresado en una célula tumoral mientras que el brazo Fab restante del anticuerpo reconoce CD3e en un linfocito T.

Generación de la colección

A continuación, se describe la generación de una colección de anticuerpos para la presentación en el fago M13. Esencialmente, diseñamos una colección de múltiples regiones estructurales para la cadena pesada con una cadena ligera constante (o "común"). Esta colección está diseñada únicamente para la generación de anticuerpos biespecíficos de linfocitos T inactivos que contienen Fc, pero que se unen a FcgR, del isotipo IgG1 P329G LALA o IgG4 SPLE PG.

La diversidad se introdujo mediante aleatorización de oligonucleótidos solo en la CDR3 de las diferentes cadenas pesadas. Los procedimientos para la generación de colecciones de anticuerpos son bien conocidos en la técnica y se describen en Hoogenboom *et al*., Nucleic Acids Res. 1991, 19, 4133-413; o en Lee *et al*., J. Mol. Biol. (2004) 340, 1073-1093.

Usamos estas cadenas pesadas en la colección:

IGHV1-46*01 (X92343), (SEQ ID NO: 104)

IGHV1-69*06 (L22583), (SEQ ID NO: 105)

IGHV3-15*01 (X92216), (SEQ ID NO: 106)

IGHV3-23*01 (M99660), (SEQ ID NO: 107)

IGHV4-59*01 (AB019438), (SEQ ID NO: 108)

IGHV5-51*01 (M99686), (SEQ ID NO: 109)

Usamos la cadena ligera derivada del anticuerpo humanizado CH2527 específico para CD3ε de macaco y humano en la colección: (VL7_46-13; SEQ ID NO: 112). Esta cadena ligera no se aleatorizó y se usó sin modificaciones adicionales para garantizar la compatibilidad con diferentes proteínas de unión biespecíficas.

Todas las cadenas pesadas usan IGHJ2 como elemento J, excepto IGHV1-69*06 que usa la secuencia IGHJ6. El diseño de la aleatorización se centró solo en la CDR-H3, y se diseñaron oligonucleótidos de PCR que permiten el uso de insertos aleatorios entre el elemento V y el elemento J de 4 a 9 aminoácidos de longitud.

Ejemplo 6

Selección de fragmentos de anticuerpo de colecciones de cadenas ligeras comunes (que comprenden

cadenas ligeras con especificidad para CD3ε) contra FolR1

Los anticuerpos 16A3, 15A1, 18D3, 19E5, 19A4, 15H7, 15B6, 16D5, 15E12, 21D1, 16F12, 21A5, 21G8, 19H3, 20G6 y 20H7 que comprenden la cadena ligera común VL7_46-13 con especificidad para CD3ε se obtuvieron mediante selecciones de presentación en fagos contra diferentes especies (humana, de macaco y murina) de FolR1. Los clones 16A3, 15A1, 18D3, 19E5, 19A4, 15H7, 15B6, 21D1, 16F12, 19H3, 20G6 y 20H7 se seleccionaron de una subcolección en la que la cadena ligera común estaba emparejada con un repertorio de cadenas pesadas basado en la línea germinal humana VH1_46. En esta subcolección, la CDR3 de VH1_46 se había aleatorizado en base a 6 longitudes diferentes de CDR3. Los clones 16D5, 15E12, 21A5 y 21G8 se seleccionaron de una subcolección en la que la cadena ligera común estaba emparejada con un repertorio de cadenas pesadas basado en la línea germinal humana VH3_15. En esta subcolección, la CDR3 de VH3_15 se había aleatorizado en base a 6 longitudes diferentes de CDR3. Para obtener anticuerpos de reactividad cruzada de especie (o reactivos para FolR1 murino), las diferentes especies de FolR1 se alternaron (o se mantuvieron constantes) de diferentes maneras en 3 rondas de bioselección (biopanning): 16A3 y 15A1 (FolR1 humano - de macaco - humano); 18D3 (FolR1 de macaco - humano - murino); 19E5 y 19A4 (3 rondas contra FolR1 murino); 15H7, 15B6, 16D5, 15E12, 21D1, 16F12, 21A5, 21G8 (FolR1 humano - de macaco - humano); 19H3, 20G6 y 20H7 (3 rondas contra FolR1 murino).

Los FolR1 humano, murino y de macaco como antígenos para las selecciones de presentación en fagos, así como los cribados basados en ELISA y SPR, se expresaron de forma transitoria como fusión Fc monomérica N terminal en células HEK EBNA y se biotinilaron específicamente en el sitio *in vivo* por medio de la coexpresión de la biotina ligasa BirA en la secuencia de reconocimiento de la marca de avidina localizada en el extremo C de la porción Fc que lleva la cadena del receptor (cadena de botón Fc). Para evaluar la especificidad para FolR1, se generaron dos receptores relacionados, FolR2 y FolR3 humanos de la misma manera.

Se realizaron rondas de selección (biopanning) en solución de acuerdo con el siguiente patrón:

1. Eliminación previa de ~10^{12} partículas de fagómidos en placas maxisorp recubiertas con 10 µg/ml de una IgG humana no relacionada para agotar las colecciones de anticuerpos que reconocen la porción Fc del antígeno.

2. Incubación de las partículas de fagómidos que no se unen a Fc con FolR1 biotinilado humano, de macaco o murino 100 nM durante 0,5 h en presencia de una construcción de botón en ojal Fc no biotinilada no relacionada 100 nM para una disminución adicional de las proteínas de unión a Fc en un volumen total de 1 ml.

3. Captura del FolR1 biotinilado y del fago específicamente unido mediante transferencia a 4 pocillos de una placa de microvaloración prerrecubierta con neutravidina durante 10 min (en las rondas 1 y 3).

4. Lavado de los pocillos respectivos con 5 x PBS/Tween20 y 5 x PBS.

5. Elución de las partículas de fagos por adición de 250 µl de TEA (trietilamina) 100 mM por pocillo durante 10 min y neutralización por adición de 500 µl de Tris/HCl 1 M pH 7,4 a los eluidos agrupados de 4 pocillos.

6. Eliminación posterior de los eluidos neutralizados por incubación en una placa de microvaloración prerrecubierta con neutravidina con FolR2 o FolR3 capturado con biotina 100 nM para la eliminación final de las proteínas de unión a Fc e inespecíficas.

7. Reinfección de células de *E. coli* TG1 en fase logarítmica con el sobrenadante de partículas de fagos eluidas, infección con el fago auxiliar VCSM13, incubación en un agitador a 30 °C durante la noche y posterior precipitación con PEG/NaCl de partículas de fagómidos que se va a usar en la siguiente ronda de selección.

Las selecciones se llevaron a cabo en 3 rondas usando concentraciones de antígenos constantes de 100 nM. En la ronda 2, para evitar el enriquecimiento en neutravidina de las proteínas de unión, se realizó la captura de complejos antígeno:fago por adición de 5,4 x 10^7 microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina. Las proteínas de unión específicas se identificaron mediante ELISA como sigue: Se recubrieron 100 µl de FolR1 biotinilado humano, de macaco o murino 25 nM y 10 µg/ml de IgG humana sobre placas de neutravidina y placas maxisorp, respectivamente. Se añadieron sobrenadantes bacterianos que contenían Fab y se detectaron los Fab de unión por medio de sus marcas Flag usando un anticuerpo secundario anti-Flag/HRP. Los clones que presentan señales en FolR1 humano y son negativos en IgG humana se incluyeron en la preselección para realizar análisis adicionales y también se sometieron a prueba de manera similar contra las dos especies restantes de FolR1. Se expresaron bacterianamente en un volumen de cultivo de 0,5 litros, se purificaron por afinidad y se caracterizaron adicionalmente por análisis SPR usando el biosensor ProteOn XPR36 de BioRad.

Las afinidades (K_D) de los clones seleccionados se midieron por resonancia de plasmón superficial (SPR) usando un instrumento ProteOn XPR36 (Biorad) a 25 °C con FolR1 biotinilado humano, de macaco y murino, así como FolR2 y FolR3 humanos (controles negativos) inmovilizados en chips NLC por captura con neutravidina. Inmovilización de antígenos (ligando): los antígenos recombinantes se diluyeron con PBST (fosfato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, pH 7,4, Tween 20 al 0,005 %) a 10 µg/ml y, a continuación, se inyectaron a 30 µl/minuto en orientación vertical.

Inyección de analitos: para las mediciones de cinética con dosis única, se cambió la dirección de inyección a la orientación horizontal, se inyectaron simultáneamente series de dilución 1:2 de Fab purificado (intervalos de concentración variables) a lo largo de canales 1-5 separados, con tiempos de asociación de 200 s y tiempos de disociación de 600 s. Se inyectó el tampón (PBST) a lo largo del sexto canal para proporcionar un blanco "en línea" como referencia. Se calcularon las constantes de velocidad de asociación (k_{as}) y las constantes de velocidad de disociación (k_{dis}) usando un modelo de Langmuir sencillo de unión uno a uno en el programa informático ProteOn Manager v3.1 ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. Se calculó la constante de disociación en equilibrio (K_D) como la proporción k_{dis}/k_{as}. La tabla 4 enumera las constantes de disociación en equilibrio (K_D) de los clones seleccionados específicos para FolR1.

Tabla 4: Constantes de disociación en equilibrio (K_D) para anticuerpos anti-FolR1 (formato Fab) seleccionados por presentación en fagos de subcolecciones de cadenas ligeras comunes que comprenden VL7_46-13, una cadena ligera humanizada específica para CD3ε. K_D en nM.

Clon	huFolR1 [nM]	cyFolR1 [nM]	muFolR1 [nM]	huFolR2 [nM]	huFolR3 [nM]
16A3	**21,7**	**18**	**muy débil**	**sin unión**	**sin unión**
15A1	**30,9**	**17,3**	**muy débil**	**sin unión**	**sin unión**
18D3	**93,6**	**40,2**	**muy débil**	**sin unión**	**sin unión**
19E5	**522**	**276**	**19,4**	**sin unión**	**sin unión**
19A4	**2050**	**4250**	**43,1**	**sin unión**	**sin unión**
15H7	**13,4**	**72,5**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
15B6	**19,1**	**13,9**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
16D5	**39,5**	**114**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
15E12	**55,7**	**137**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
21D1	**62,6**	**32,1**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
16F12	**68**	**90,9**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
21A5	**68,8**	**131**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
21G8	**130**	**261**	**sin unión**	**sin unión**	**sin unión**
19H3	**sin unión**	**sin unión**	**89,7**	**sin unión**	**sin unión**
20G6	**sin unión**	**sin unión**	**78,5**	**sin unión**	**sin unión**

Ejemplo 7

Selección de fragmentos de anticuerpo de colecciones genéricas de múltiples regiones estructurales para FolR1

Los anticuerpos 11F8, 36F2, 9D11, 5D9, 6B6 y 14E4 se obtuvieron mediante selecciones de presentación en fagos basadas en subcolecciones genéricas de múltiples regiones estructurales contra diferentes especies (humana, de macaco y murina) de FolR1. En estas subcolecciones de múltiples regiones estructurales, diferentes dominios VL con CDR3 aleatorizada (3 longitudes diferentes) se emparejan con diferentes dominios VH con CDR3 aleatorizada (6 longitudes diferentes). Los clones seleccionados son de los siguientes emparejamientos VL/VH: 11F8 (Vk_1_5/VH_1_69), 36F2 (Vk_3_20/VH_1_46), 9D11 (Vk2D_28/VH1_46), 5D9 (Vk3_20/VH1_46), 6B6 (Vk3_20/VH1_46) y 14E4 (Vk3_20/VH3_23). Para obtener anticuerpos de reactividad cruzada de especie (o reactivos para FolR1 murino), las diferentes especies de FolR1 se alternaron (o se mantuvieron constantes) de diferentes maneras en 3 o 4 rondas de bioselección (biopanning): 11F8 (FolR1 de macaco - murino - humano); 36F2 (FolR1 humano - murino - de macaco - murino); 9D11 (FolR1 de macaco - humano - macaco); 5D9 (FolR1 humano - de macaco - humano); 6B6 (FolR1 humano - de macaco - humano) y 14E4 (3 rondas contra FolR1 murino).

Los FolR1 humano, murino y de macaco como antígenos para las selecciones de presentación en fagos, así como los cribados basados en ELISA y SPR, se expresaron de forma transitoria como fusión Fc monomérica N terminal en células HEK EBNA y se biotinilaron específicamente en el sitio *in vivo* por medio de la coexpresión de la biotina ligasa BirA en la secuencia de reconocimiento de la marca de avidina localizada en el extremo C de la porción Fc que lleva la cadena del receptor (cadena de botón Fc). Para evaluar la especificidad para FolR1, se generaron dos receptores relacionados, FolR2 y FolR3 humanos de la misma manera.

Se realizaron rondas de selección (biopanning) en solución de acuerdo con el siguiente patrón:

1. Eliminación previa de ~10^{12} partículas de fagómidos en placas maxisorp recubiertas con 10 µg/ml de una IgG humana no relacionada para agotar las colecciones de anticuerpos que reconocen la porción Fc del antígeno.

2. Incubación de las partículas de fagómidos que no se unen a Fc con FolR1 biotinilado humano, de macaco o murino

100 nM durante 0,5 h en presencia de una construcción de botón en ojal Fc no biotinilada no relacionada 100 nM para una disminución adicional de las proteínas de unión a Fc en un volumen total de 1 ml.

3. Captura del FolR1 biotinilado y del fago específicamente unido mediante transferencia a 4 pocillos de una placa de microvaloración prerrecubierta con neutravidina durante 10 min (en las rondas 1 y 3).

4. Lavado de los pocillos respectivos con 5 x PBS/Tween20 y 5 x PBS.

5. Elución de las partículas de fagos por adición de 250 µl de TEA (trietilamina) 100 mM por pocillo durante 10 min y neutralización por adición de 500 µl de Tris/HCl 1 M pH 7,4 a los eluidos agrupados de 4 pocillos.

6. Eliminación posterior de los eluidos neutralizados por incubación en una placa de microvaloración prerrecubierta con neutravidina con FolR2 o FolR3 capturado con biotina 100 nM para la eliminación final de las proteínas de unión a Fc e inespecíficas.

7. Reinfección de células de *E. coli* TG1 en fase logarítmica con el sobrenadante de partículas de fagos eluidas, infección con el fago auxiliar VCSM13, incubación en un agitador a 30 °C durante la noche y posterior precipitación con PEG/NaCl de partículas de fagómidos que se va a usar en la siguiente ronda de selección.

Las selecciones se llevaron a cabo en 3 rondas usando concentraciones de antígenos constantes de 100 nM. En las rondas 2 y 4, para evitar el enriquecimiento en neutravidina de las proteínas de unión, se realizó la captura de complejos antígeno:fago por adición de $5,4 \times 10^7$ microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina. Las proteínas de unión específicas se identificaron mediante ELISA como sigue: Se recubrieron 100 µl de FolR1 biotinilado humano, de macaco o murino 25 nM y 10 µg/ml de IgG humana sobre placas de neutravidina y placas maxisorp, respectivamente. Se añadieron sobrenadantes bacterianos que contenían Fab y se detectaron los Fab de unión por medio de sus marcas Flag usando un anticuerpo secundario anti-Flag/HRP. Los clones que presentan señales en FolR1 humano y son negativos en IgG humana se incluyeron en la preselección para realizar análisis adicionales y también se sometieron a prueba de manera similar contra las dos especies restantes de FolR1. Se expresaron bacterianamente en un volumen de cultivo de 0,5 litros, se purificaron por afinidad y se caracterizaron adicionalmente por análisis SPR usando el biosensor ProteOn XPR36 de BioRad.

Las afinidades (K_D) de los clones seleccionados se midieron por resonancia de plasmón superficial (SPR) usando un instrumento ProteOn XPR36 (Biorad) a 25 °C con FolR1 biotinilado humano, de macaco y murino, así como FolR2 y FolR3 humanos (controles negativos) inmovilizados en chips NLC por captura con neutravidina. Inmovilización de antígenos (ligando): los antígenos recombinantes se diluyeron con PBST (fosfato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, pH 7,4, Tween 20 al 0,005 %) a 10 µg/ml y, a continuación, se inyectaron a 30 µl/minuto en orientación vertical. Inyección de analitos: para las mediciones de cinética con dosis única, se cambió la dirección de inyección a la orientación horizontal, se inyectaron simultáneamente series de dilución 1:2 de Fab purificado (intervalos de concentración variables) a lo largo de canales 1-5 separados, con tiempos de asociación de 150 o 200 s y tiempos de disociación de 200 o 600 s, respectivamente. Se inyectó el tampón (PBST) a lo largo del sexto canal para proporcionar un blanco "en línea" como referencia. Se calcularon las constantes de velocidad de asociación (k_{as}) y las constantes de velocidad de disociación (k_{dis}) usando un modelo de Langmuir sencillo de unión uno a uno en el programa informático ProteOn Manager v3.1 ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. Se calculó la constante de disociación en equilibrio (K_D) como la proporción k_{dis}/k_{as}. La tabla 5 enumera las constantes de disociación en equilibrio (K_D) de los clones seleccionados específicos para FolR1.

Tabla 5: Constantes de disociación en equilibrio (K_D) para anticuerpos anti-FolR1 (formato Fab) seleccionados por presentación en fagos de subcolecciones genéricas de múltiples regiones estructurales. K_D en nM.

	K_D (nM)				
Clon	**huFolR1**	**cyFolR1**	**muFolR1**	**huFolR2**	**huFolR3**
11F8	632	794	1200	sin unión	sin unión
36F2	1810	1640	737	sin unión	sin unión
9D11	8,64	5,29	sin unión	sin unión	sin unión
5D9	8,6	5,9	sin unión	sin unión	sin unión
6B6	14,5	9,4	sin unión	sin unión	sin unión
14E4	sin unión	sin unión	6,09	sin unión	sin unión

Ejemplo 8

Producción y purificación de proteínas de unión a FolR1 novedosas en formatos biespecíficos de linfocitos T e IgG

Para identificar las proteínas de unión a FolR1 que pueden inducir la destrucción dependiente de linfocitos T de las células diana seleccionadas, los anticuerpos aislados de una colección de Fab o cadenas ligeras comunes se convirtieron al formato IgG1 humano correspondiente. En resumen, se amplificaron las cadenas pesada variable y ligera variable de proteínas de unión a FolR1 únicas de la presentación en fagos mediante reacciones de PCR estándar usando los clones de Fab como molde. Los productos de PCR se purificaron e insertaron (mediante clonación basada en endonucleasas de restricción y ligasas o bien mediante "recombinación" usando el kit InFusion de Invitrogen) en vectores de expresión adecuados en los que se fusionan a la cadena pesada constante humana o cadena ligera constante humana apropiada. Los casetes de expresión en estos vectores consisten en un promotor MPSV quimérico y un sitio de poliadenilación sintético. Además, los plásmidos contienen la región oriP del virus de Epstein-Barr para el mantenimiento estable de los plásmidos en células HEK293 que albergan el antígeno nuclear de EBV (EBNA). Después de la transfección mediada por PEI, los anticuerpos se produjeron de forma transitoria en células HEK293 EBNA y se purificaron mediante cromatografía de afinidad con proteína A estándar seguida de cromatografía de exclusión por tamaño como se describe:

Transfección y producción transitorias

Todos los anticuerpos (biespecíficos) (si no se obtuvieron a partir de una fuente comercial) usados en el presente documento se produjeron de forma transitoria en células HEK 293 EBNA usando un procedimiento de transfección mediada por PEI para los vectores requeridos como se describe a continuación. Las células HEK293 EBNA se cultivan en suspensión sin suero en medio de cultivo CD CHO. Para la producción en un matraz de agitación de 500 ml, se siembran 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección (para escalas alternativas, todas las cantidades se ajustaron en consecuencia). Para la transfección, las células se centrifugan durante 5 min mediante 210 x g, el sobrenadante se reemplaza por 20 ml de medio CD CHO precalentado. Se mezclan vectores de expresión en 20 ml de medio CD CHO hasta una cantidad final de 200 µg de ADN. Después de la adición de 540 µl, la solución de PEI se mezcla con una agitadora vorticial durante 15 s y posteriormente se incuba durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclan con la solución de ADN/PEI, se transfieren a un matraz de agitación de 500 ml y se incuban durante 3 horas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después del tiempo de incubación, se añaden 160 ml de medio FI7 y las células se cultivan durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añade ácido valpórico 1 mM y medio Feed 1 al 7 %. Después de un cultivo de 7 días, se recoge el sobrenadante para la purificación mediante centrifugación durante 15 min a 210 x g, la solución se filtra en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm) y se añade acida de sodio hasta una concentración final de 0,01 % (p/v) y se mantiene a 4 °C. Después de la producción, se obtuvieron los sobrenadantes y se filtraron los sobrenadantes que contenían anticuerpos a través de filtros estériles de 0,22 µm y se almacenaron a 4 ºC hasta su purificación.

Purificación de anticuerpos

Todas las moléculas se purificaron en dos etapas usando procedimientos estándar, tales como cromatografía de afinidad con proteína A (Äkta Explorer) y cromatografía de exclusión por tamaño. El sobrenadante obtenido de la producción transitoria se ajustó a pH 8,0 (usando TRIS 2 M, pH 8,0) y se aplicó a una columna HiTrap PA FF (GE Healthcare, volumen de columna (VC) = 5 ml) equilibrada con 8 volúmenes de columna (VC) de *tampón A* (fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, pH 7,5). Después de lavar con 10 VC de *tampón A,* la proteína se eluyó usando un gradiente de pH para *tampón B* (citrato de sodio 20 mM, pH 3, NaCl 100 mM, glicina 100 mM) en 12 VC. Las fracciones que contenían la proteína de interés se agruparon y el pH de la solución se ajustó suavemente a pH 6,0 (usando Na_2HPO_4 0,5 M, pH 8,0). Las muestras se concentraron a 2 ml usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius) y posteriormente se aplicaron a una columna de calidad preparativa HiLoad™ 16/60 Superdex™ 200 (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, pH 6,0, NaCl 140 mM, Tween-20 al 0,01 %. El contenido agregado de las fracciones eluidas se analizó por cromatografía analítica de exclusión por tamaño. Por lo tanto, se aplicaron 30 µl de cada fracción a una columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh) equilibrada en K_2HPO_4 25 mM, NaCl 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, NaN_3 al 0,02 % (p/v), tampón de migración a pH 6,7, a 25 °C. Se combinaron las fracciones que contenían menos de un 2 % de oligómeros y se concentraron a una concentración final de 1-1,5 mg/ml usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius). Se determinó la concentración de proteína midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos. La pureza y el peso molecular de las construcciones se analizaron mediante electroforesis capilar-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor siguiendo las instrucciones del fabricante (instrumento Caliper LabChipGX, Perkin Elmer). Las proteínas purificadas se congelaron en N_2 líquido y se almacenaron a -80 °C. En base a los resultados de caracterización *in vitro*, las proteínas de unión seleccionadas se convirtieron a un formato biespecífico de linfocitos T. En estas moléculas, los restos de unión a FolR1:CD3 están dispuestos en un orden 2:1 con los Fab de FolR1 localizados en el extremo N. Para los clones aislados de la colección de Fab estándar, la parte de unión a CD3 se generó como un CrossFab (entrecruzamiento CH1Cκ), mientras que para los clones de la colección de cadenas ligeras comunes no fue necesario ningún entrecruzamiento. Estas moléculas biespecíficas se produjeron y purificaron de forma análoga a las IgG.

Tabla 6: Rendimiento y contenido de monómero de proteínas de unión a FolR1 novedosas en formato IgG y TCB, respectivamente.

			IgG		TCB	
N.º	**Clon**	**Colección**	**Rendimiento [mg/l]**	**Monómero [%]**	**Rendimiento [mg/l]**	**Monómero [%]**
1	11F8	Fab	8,03	96,26	--	--
2	14E4	Fab	8,90	98,12	--	--
3	15B6	CLC	7,72	100,00	--	--
4	15E12	CLC	6,19	100,00	--	--
5	15H7	CLC	8,94	100,00	--	--
6	16A3	CLC	0,60	n.d.	--	--
7	16D5	CLC	36,50	96,96	4,36	97,19
8	16F12	CLC	5,73	97,17	--	--
9	18D3	CLC	0,90	n.d.	--	--
10	19A4	CLC	38,32	100,00	37,50	100,00
11	19E5	CLC	46,09	100,00	--	--
12	19H3	CLC	7,64	100,00	--	--
13	20G6	CLC	24,00	100,00	--	--
14	20H7	CLC	45,39	100,00	--	--
15	21A5	CLC	1,38	98,56	47,31	95,08
16	21D1	CLC	5,47	100,00	--	--
17	21G8	CLC	6,14	97,28	9,27	100,00
18	36F2	Fab	11,22	100,00	18,00	100,00
19	5D9	Fab	20,50	100,00	0,93	97,32
20	6B6	Fab	3,83	100,00	4,17	91,53
21	9D11	Fab	14,61	100,00	2,63	100,00

CLC: Cadena ligera común

Ejemplo 9

Formatos biespecíficos de linfocitos T 2+1 y 1+1

Se prepararon cuatro formatos biespecíficos de linfocitos T diferentes para una proteína de unión de la colección de cadenas ligeras comunes (16D5) y tres formatos para una proteína de unión de la colección de Fab (9D11) para comparar sus propiedades de destrucción *in vitro*.

El formato estándar es el formato invertido 2+1 como ya se describió (restos de unión a FolR1:CD3 dispuestos en un orden 2:1 con los Fab de FolR1 localizados en el extremo N). En el formato clásico 2+1, los restos de unión a FolR1:CD3 están dispuestos en un orden 2:1 con el Fab de CD3 localizado en el extremo N. También se prepararon dos formatos monovalentes. El formato 1+1 cabeza a cola tiene los restos de unión a FolR1:CD3 dispuestos en un orden 1:1 en el mismo brazo de la molécula con el Fab de FolR1 localizado en el extremo N. En el formato 1+1 clásico, los restos de unión a FolR1:CD3 están presentes una vez, cada uno en un brazo de la molécula. Para el clon 9D11 aislado de la colección de Fab estándar, la parte de unión a CD3 se generó como un CrossFab (entrecruzamiento CH1Cκ), mientras que para el clon 16D5 de la colección de cadenas ligeras comunes no fue necesario ningún entrecruzamiento. Estas moléculas biespecíficas se produjeron y purificaron de forma análoga al formato biespecífico de linfocitos T invertido estándar.

Tabla 7: Resumen del rendimiento y contenido final de monómero de los diferentes formatos biespecíficos de linfocitos T.

Construcción	**Monómero [%] (SEC)**	**Rendimiento**
TCB FolR1 16D5 2+1 (invertido)	96 %	5,4 mg/l
TCB FolR1 16D5 2+1 (clásico)	90 %	4,6 mg/l

Construcción	Monómero [%] (SEC)	Rendimiento
TCB FolR1 16D5 1+1 (cabeza a cola)	100 %	5,4 mg/l
TCB FolR1 16D5 1+1 (clásico)	100 %	0,7 mg/l
TCB FolR1 9D11 2+1 (invertido)	100 %	2,6 mg/l
TCB FolR1 9D11 1+1 (cabeza a cola)	100 %	6,1 mg/l
TCB FolR1 9D11 1+1 (clásico)	96 %	1,3 mg/l
TCB FolR1 Mov19 2+1 (invertido)	98 %	3 mg/l
TCB FolR1 Mov19 1+1 (cabeza a cola)	100 %	5,2 mg/l

Ejemplo 10

Caracterización bioquímica de proteínas de unión a FolR1 por resonancia de plasmón superficial

La unión de las proteínas de unión a FolR1 como IgG o en el formato biespecífico de linfocitos T a diferentes receptores de folato recombinantes (FolR1, 2 y 3 humano, FolR1 murino y FolR1 de macaco; todos como fusiones Fc) se evaluó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). Todos los experimentos de SPR se realizaron en un Biacore T200 a 25 °C con HBS-EP como tampón de migración (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %, Biacore, Friburgo / Alemania).

Inyecciones únicas

Primero, las IgG anti-FolR1 se analizaron mediante inyecciones únicas (tabla 1) para caracterizar su reactividad cruzada (con FolR1 humano, murino y de macaco) y especificidad (para FolR1 humano, FolR2 humano, FolR3 humano). Las fusiones Fc monoméricas biotiniladas recombinantes de los receptores de folato 1 humano, de macaco y murino (FolR1-Fc) o los receptores de folato 2 y 3 humano (FolR2-Fc, FolR3-Fc) se acoplaron directamente en un chip SA usando las instrucciones de acoplamiento estándar (Biacore, Friburgo / Alemania). El nivel de inmovilización fue de aproximadamente 300-400 UR. Las IgG se inyectaron durante 60 segundos a una concentración de 500 nM. Las IgG que se unieron a huFolR2 y huFolR3 se rechazaron por falta de especificidad. La mayoría de las proteínas de unión solo tienen reactividad cruzada entre FolR1 humano y de macaco, mientras que la reactividad cruzada adicional para FolR1 murino estuvo la mayor parte del tiempo vinculada a la pérdida de especificidad.

Tabla 8: Reactividad cruzada y especificidad de 25 nuevas proteínas de unión al receptor 1 de folato (como IgG), así como de dos IgG de control (Mov19 y Farletuzumab). + significa unión, - significa que no hay unión, +/- significa una unión débil.

Nombre del clon	Unión a huFolR1	Unión a cyFolR1	Unión a muFolR1	Unión a huFolR2	Unión a huFolR3
Mov19	+	+	-	-	-
Farletuzumab	+	+	-	-	-
16A3	+	+	+/-	-	-
18D3	+	+	-	-	-
19E5	+	+	+	+	+
19A4	-	-	+	+	+
15H7	+	+	+	-	-
15B6	+	+	-	-	-
16D5	+	+	-	-	-
15E12	+	+	+/-	+	+
21D1	+	+	+/-	-	-
16F12	+	+	-	-	-
21A5	+	+	-	-	+/-
21G8	+	+	-	+	+
19H3	-	-	+	-	-
20G6	-	-	+	-	-
20H7	-	-	+	-	-
9D11	+	+	-	-	-
5D9	+	+	-	+	+

Nombre del clon	Unión a huFolR1	Unión a cyFolR1	Unión a muFolR1	Unión a huFolR2	Unión a huFolR3
6B6	+	+	-	+	+
11F8	+	+	+	+	+
36F2	+	+	+	-	-
14E4	-	-	+	-	-

Avidez por el receptor 1 de folato

La avidez de la interacción entre las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 y los receptores de folato recombinantes se determinó como se describe a continuación (tabla 9).

Las fusiones Fc monoméricas biotiniladas recombinantes del receptor 1 de folato humano, de macaco y murino (FolR1-Fc) se acoplaron directamente en un chip SA usando las instrucciones de acoplamiento estándar (Biacore, Friburgo / Alemania). El nivel de inmovilización fue de aproximadamente 300-400 UR. Las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 se pasaron a un intervalo de concentración de 2,1 a 500 nM con un caudal de 30 µl/minuto a través de las cubetas de lectura durante 180 segundos. Se supervisó la disociación durante 600 segundos. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en una cubeta de lectura de referencia inmovilizada con fusión Fc del receptor de IL2 biotinilada recombinante. Para el análisis de la interacción de IgG 19H3 y el receptor 1 de folato murino, se añadió folato (Sigma F7876) en el tampón de migración HBS-EP a una concentración de 2,3 µM. Las curvas de unión resultantes de la unión bivalente de las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T se aproximaron a una unión de Langmuir 1:1 y se ajustaron a ese modelo (que no es correcto, pero da una idea de la avidez). Las constantes de avidez aparente para las interacciones se derivaron de las constantes de velocidad del ajuste utilizando el programa informático Bia Evaluation (GE Healthcare).

Tabla 9: Unión bivalente (avidez con K_D aparente) de proteínas de unión a FolR1 seleccionadas como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano y de macaco.

Analito	Ligando	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D aparente (M)
TCB 16D5	**huFolR1**	8,31E+04	3,53E-04	4,24E-09
	cyFolR1	1,07E+05	3,70E-04	3,45E-09
TCB 9D11	**huFolR1**	1,83E+05	9,83E-05	5,36E-10
	cyFolR1	2,90E+05	6,80E-05	2,35E-10
TCB 21A5	**huFolR1**	2,43E+05	2,64E-04	1,09E-09
	cyFolR1	2,96E+05	2,76E-04	9,32E-10
IgG 36F2	**huFolR1**	2,62E+06	1,51E-02	5,74E-9
	cyFolR1	3,02E+06	1,60E-02	5,31E-9
	muFolR1	3,7E+05	6,03E-04	1,63E-9
IgG Mov19	**huFolR1**	8,61E+05	1,21E-04	1,4E-10
	cyFolR1	1,29E+06	1,39E-04	1,08E-10
Farletuzumab	**huFolR1**	1,23E+06	9E-04	7,3E-10
	cyFolR1	1,33E+06	8,68E-04	6,5E-10
IgG 19H3	**muFolR1**	7,1E+05	1,1E-03	1,55E-09

1. Afinidad por el receptor 1 de folato

La afinidad de la interacción entre las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 y los receptores de folato recombinantes se determinó como se describe a continuación (tabla 10).

Para la medición de afinidad, se realizó el acoplamiento directo de alrededor de 6000-7000 unidades de resonancia (UR) del anticuerpo específico anti-Fab humano (kit de captura de Fab, GE Healthcare) en un chip CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (GE Healthcare). Se capturaron las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 a 20 nM con un caudal de 10 µl/min durante 20 o 40 segundos, la cubeta de lectura de referencia se dejó sin captura. Se pasaron series de dilución (6,17 a 500 nM o 12,35 a 3000 nM) de fusión de Fc con el receptor 1 de folato humano o de macaco en todas las cubetas de lectura a 30 µl/min durante 120 o 240 segundos para registrar la fase de asociación. Se supervisó la fase de disociación durante hasta 240 s y se activó cambiando de la solución de muestra a HBS-EP. La superficie del chip se regeneró después de cada ciclo usando una inyección doble de 60 s de glicina-HCl 10 mM, pH 2,1 o pH 1,5. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia 1. Las constantes de afinidad para las

interacciones se derivaron de las constantes de velocidad ajustando a una unión de Langmuir 1:1 usando el programa informático Bia Evaluation (GE Healthcare).

Tabla 10: Unión monovalente (afinidad) de proteínas de unión a FolR1 seleccionadas como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano y de macaco.

Ligando	Analito	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)
TCB 16D5	**huFolR1**	1,53E+04	6,88E-04	4,49E-08
	cyFolR1	1,32E+04	1,59E-03	1,21E-07
TCB 9D11	**huFolR1**	3,69E+04	3,00E-04	8,13E-09
	cyFolR1	3,54E+04	2,06E-04	5,82E-09
TCB 21A5	**huFolR1**	1,79E+04	1,1E-03	6,16E-08
	cyFolR1	1,48E+04	2,06E-03	1,4E-07
IgG Mov19	**huFolR1**	2,89E+05	1,59E-04	5,5E-10
	cyFolR1	2,97E+05	1,93E-04	6,5E-10
Farletuzumab	**huFolR1**	4,17E+05	2,30E-02	5,53E-08
	cyFolR1	5,53E+05	3,73E-02	6,73E-08

2. Afinidad por CD3

La afinidad de la interacción entre las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 y CD3εδ-Fc humano recombinante se determinó como se describe a continuación (tabla 11).

Para la medición de afinidad, se realizó el acoplamiento directo de alrededor de 9000 unidades de resonancia (UR) del anticuerpo específico anti-Fab humano (kit de captura de Fab, GE Healthcare) en un chip CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (GE Healthcare). Se capturaron las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 a 20 nM con un caudal de 10 µl/min durante 40 segundos, la cubeta de lectura de referencia se dejó sin captura. Se pasaron series de dilución (6,17 a 500 nM) de la fusión CD3εδ-Fc humano en todas las cubetas de lectura a 30 µl/min durante 240 segundos para registrar la fase de asociación. Se supervisó la fase de disociación durante hasta 240 s y se activó cambiando de la solución de muestra a HBS-EP. La superficie del chip se regeneró después de cada ciclo usando una inyección doble de 60 s de glicina-HCl 10 mM, pH 2,1. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia 1. Las constantes de afinidad para las interacciones se derivaron de las constantes de velocidad ajustando a una unión de Langmuir 1:1 usando el programa informático Bia Evaluation (GE Healthcare).

Tabla 11: Unión monovalente (afinidad) de moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) para FolR1 seleccionadas en CD3-Fc humano.

Ligando	Analito	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TCB 16D5	**huCD3**	4,25E+04	3,46E-03	8,14E-08
TCB 21A5	**huCD3**	3,72E+04	3,29E-03	8,8E-08

La parte de unión a CD3 es idéntica para todas las construcciones y la afinidad es similar para las moléculas biespecíficas de linfocitos T medidas (intervalo de K_D entre 60 y 90 nM).

Ejemplo 11

Moléculas biespecíficas de linfocitos T de unión simultánea al receptor 1 de folato y a CD3

La unión simultánea de las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 al receptor 1 de folato recombinante y a CD3εδ-Fc humano recombinante se determinó mediante resonancia de plasmón superficial como se describe a continuación. Las fusiones Fc monoméricas biotiniladas recombinantes del receptor 1 de folato humano, de macaco y murino (FolR1-Fc) se acoplaron directamente en un chip SA usando las instrucciones de acoplamiento estándar (Biacore, Friburgo / Alemania). El nivel de inmovilización fue de aproximadamente 300-400 UR. Las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 se inyectaron durante 60 s a 500 nM con un caudal de 30 µl/minutos a través de las cubetas de lectura, seguido de una inyección de huCDεδ-Fc durante 60 s a 500 nM. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en una cubeta de lectura de referencia inmovilizada con fusión Fc del receptor de IL2 biotinilada recombinante. Las cuatro moléculas biespecíficas de linfocitos T sometidas a prueba (TCB 16D5, TCB 21A5, TCB 51C7 y TCB 45D2) se pudieron unir simultáneamente al receptor 1 de folato y a CD3 humano como se esperaba.

Ejemplo 12 Agrupación de epítopos

Para la agrupación de epítopos, las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 se inmovilizaron directamente en un chip CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (GE Healthcare), con una respuesta final de alrededor de 700 UR. A continuación, se capturó huFolR1-Fc 500 nM durante 60 s, seguido de 500 nM de las diferentes proteínas de unión durante 30 s. La superficie se regeneró con dos inyecciones de glicina 10 mM a pH 2 durante 30 s cada una. Se evalúa si las diferentes proteínas de unión se pueden unir a huFolR1 capturado en proteínas de unión inmovilizadas (tabla 12).

Tabla 12: Caracterización de epítopos de proteínas de unión a FolR1 seleccionadas como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano. + significa unión, - significa que no hay unión, +/- significa una unión débil

		Analitos en solución					
	En huFolR1	TCB 16D5	TCB 21A5	TCB 9D11	IgG 36F2	IgG Mov19	Farletuzumab
Inmovilizado	TCB 16D5	-	-	-	+	+	+
	TCB 21A5	-	-	-	+	+	+
	TCB 9D11	No es posible una unión adicional a FolR1 una vez capturado en 9D11					
	IgG 36F2	No es posible realizar mediciones, huFolR1 se disocia demasiado rápido					
	IgG Mov19	+	+	+/-	-	-	-

En base a estos resultados y a datos adicionales con unión simultánea a huFolR1 inmovilizado, las proteínas de unión se separaron en tres grupos. No está claro si 9D11 tiene un epítopo separado, ya que desplaza a todas las demás proteínas de unión. 16D5 y 21A5 parecen estar en el mismo grupo y Mov19, Farletuzumab (Coney *et al*., Cancer Res. 1991 Nov 15; 51(22): 6125-32; Kalli *et al*., Curr Opin Investig Drugs. 2007 Dic; 8(12): 1067-73) y 36F2 en otro (tabla 13). Sin embargo, 36F2 se une a un epítopo diferente que Mov19 y Farletuzumab, ya que se une a FolR1 humano, de macaco y murino.

Tabla 13: Agrupación de epítopos de proteínas de unión a FolR1 seleccionadas como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano

Epítopo 1	**Epítopo 2**	**Epítopo 3**
16D5	9D11	Mov19
21A5		Farletuzumab
		36F2

Ejemplo 13 Selección de proteínas de unión

Las proteínas de unión a FolR1 en los formatos IgG se cribaron mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) y mediante ensayo *in vitro* en células para seleccionar los mejores candidatos.

Las IgG anti-FolR1 se analizaron mediante SPR para caracterizar su reactividad cruzada (con FolR1 humano, murino y de macaco) y especificidad (para FolR1 humano, FolR2 humano, FolR3 humano). La unión inespecífica a FolR2 y 3 humanos se consideró un factor de exclusión. La unión y la especificidad para FolR1 humano se confirmó en las células. Algunas proteínas de unión no se unieron a las células que expresaban FolR1 aunque reconocieron el FolR1 humano recombinante en SPR. Se determinó la temperatura de agregación, pero no fue un factor de exclusión, ya que las proteínas de unión seleccionadas eran todas estables. Las proteínas de unión seleccionadas se sometieron a prueba en un ELISA de polirreactividad para verificar la unión no específica, lo que dio lugar a la exclusión de cuatro proteínas de unión. Este procedimiento dio como resultado una selección inicial de tres proteínas de unión: 36F2 (colección Fab), 9D11 (colección Fab) y 16D5 (cadena ligera común). 36F2 se disoció rápidamente de huFolR1 y, por lo tanto, inicialmente no se favoreció.

Ejemplo 14

Unión específica de proteínas de unión a FolR1 recientemente generadas a células tumorales positivas para FolR1 humano

Se generaron nuevas proteínas de unión a FolR1 por medio de presentación en fagos usando una colección de Fab o una colección de cadenas ligeras comunes usando la cadena ligera de CD3. Las proteínas de unión identificadas se convirtieron a un formato IgG1 humano y se abordó la unión a células HeLa de alta expresión de FolR1. Como molécula

de referencia se incluyó la proteína de unión a FolR1 humano Mov19. La mayoría de las proteínas de unión sometidas a prueba en este ensayo mostraron una unión a FolR1 de intermedia a buena con algunos clones uniéndose igual de bien que Mov19 (véase la figura 2). Los clones 16A3, 18D3, 15H7, 15B6, 21D1, 14E4 y 16F12 se excluyeron porque la unión a FolR1 en las células no se pudo confirmar por citometría de flujo. En una siguiente etapa, se sometió a prueba la especificidad de los clones seleccionados para FolR1 humano excluyendo la unión al FolR2 humano estrechamente relacionado. Las células HEK se transfectaron de forma transitoria con FolR1 humano o FolR2 humano para abordar la especificidad. Los clones 36F2 y 9D11 derivados de la colección Fab y los clones 16D5 y 21A5 derivados de la colección CLC se unieron específicamente a FolR1 humano y no a FolR2 humano (véanse las figuras 3A-B). Todos los demás clones sometidos a prueba mostraron al menos algo de unión a FolR2 humano (véanse las figuras 3A-B). Por lo tanto, estos clones se excluyeron de la caracterización adicional. En paralelo, la reactividad cruzada de los clones de FolR1 a FolR1 de macaco se abordó realizando estudios de unión a células HEK transfectadas de forma transitoria con FolR1 de macaco. Todos los clones sometidos a prueba se pudieron unir a FolR1 de macaco y los cuatro clones específicos seleccionados de FolR1 humano 36F2, 9D11, 16D5 y 21A5 se unieron comparativamente bien a FolR1 humano y de macaco (figura 4). Posteriormente, tres proteínas de unión de reactividad cruzada con macaco específicas de FolR1 humano se convirtieron al formato TCB y se sometieron a prueba para determinar la inducción de la destrucción por linfocitos T y la activación de linfocitos T. Estos clones fueron 9D11 de la colección Fab y 16D5 y 21A5 de la colección CLC. Como molécula de referencia se incluyó TCB FolR1 Mov19 en todos los estudios. Estos TCB FolR1 se usaron a continuación para comparar la inducción de internalización después de unirse a FolR1 en células HeLa. Los tres clones sometidos a prueba se internalizan tras la unión a FolR1 de manera comparable a la internalización tras la unión de TCB FolR1 Mov19 (figura 5). TCB FolR1 21A5 se suspendió debido a signos de polirreactividad.

Ejemplo 15

Destrucción mediada por linfocitos T de células diana tumorales que expresan FolR1 inducida por anticuerpos TCB FolR1

Las TCB FolR1 se usaron para determinar la destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales que expresan FolR1. Se usó un panel de posibles líneas celulares diana para determinar los sitios de unión a FolR1 mediante análisis Qifikit.

El panel de células tumorales usado contiene células tumorales con expresión alta, intermedia y baja de FolR1 y una línea celular negativa para FolR1.

Tabla 14: Sitios de unión a FolR1 en células tumorales

Línea celular	Origen	Sitios de unión a FolR1
HeLa	Adenocarcinoma de cuello uterino	2.240.716
Skov3	Adenocarcinoma ovárico	91.510
OVCAR5	Adenocarcinoma ovárico	22.077
HT29	Adenocarcinoma colorrectal	10.135
MKN45	Adenocarcinoma gástrico	54

La unión de las tres TCB FolR1 diferentes (que contienen las proteínas de unión 9D11, 16D5 y Mov19) a este panel de líneas celulares tumorales se determinó, lo que demuestra que las TCB FolR1 se unen específicamente a las células tumorales que expresan FolR1 y no a una línea celular tumoral negativa para FolR1. La cantidad de construcción unida es proporcional al nivel de expresión de FolR1 y todavía existe una buena unión de las construcciones a la línea celular de baja expresión de FolR1 HT-29 detectable. Además, no existe unión del control negativo TCB DP47 a ninguna de las líneas celulares usadas (figuras 6A-E).

La línea celular de expresión intermedia SKOV3 y la línea celular de expresión baja HT-29 se usaron adicionalmente para someter a prueba la destrucción mediada por linfocitos T y la activación de linfocitos T usando TCB 16D5 y TCB 9D11; TCB DP47 se incluyó como control negativo. Ambas líneas celulares se destruyeron ya en presencia de niveles muy bajos de TCB 16D5 y TCB 9D11 y no existió diferencia en la actividad entre ambas TCB aunque TCB 9D11 se une más fuertemente a FolR1 que TCB 16D5. La destrucción global de células SKOV3 fue mayor en comparación con HT-29, que refleja los niveles de expresión más altos de FolR1 en células SKOV3 (figuras 7A-D). En línea con esto, se detectó una fuerte regulación por incremento del marcador de activación CD25 y CD69 en linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$. La activación de los linfocitos T fue muy similar en presencia de células SKOV3 y células HT-29. El control negativo TCB DP47 no induce ninguna destrucción a las concentraciones usadas y no existió una regulación por incremento significativa de CD25 y CD69 en los linfocitos T.

Tabla 15: Valores de CE50 de destrucción de células tumorales y activación de linfocitos T con células SKOV3

Construcción	Destrucción tras 24 h (pM)	Destrucción tras 48 h (pM)	CD4+CD69+ (%)	CD4+CD25+ (%)	CD8+CD69+ (%)	CD8+CD25+ (%)
TCB FolR1 9D11	1,1	0,03	0,51	0,46	0,019	0,03
TCB FolR1 16D5	0,7	0,04	0,34	0,33	0,025	0,031

Tabla 16: Valores de CE50 de destrucción de células tumorales y activación de linfocitos T con células HT-29

Construcción	Destrucción tras 24 h (pM)	Destrucción tras 48 h (pM)	CD4+CD69+ (%)	CD4+CD25+ (%)	CD8+CD69+ (%)	CD8+CD25+ (%)
TCB FolR1 9D11	2,3	0,1	1,22	1,11	0,071	0,084
TCB FolR1 16D5	2,8	0,1	0,69	0,62	0,021	0,028

Ejemplo 16

Unión a eritrocitos y activación de linfocitos T en sangre completa

Para demostrar que no existe activación espontánea en ausencia de células tumorales que expresan FolR1, analizamos si existe unión de los clones de FolR1 a eritrocitos que potencialmente podrían expresar FolR1. No pudimos observar ninguna unión específica de IgG 9D11, IgG 16D5 e IgG Mov19 a los eritrocitos, incluyendo IgG DP47 de control negativo (figura 8).

Para excluir cualquier unión inespecífica adicional a los glóbulos sanguíneos o la activación inespecífica por medio de TCB FolR1, se añadieron TCB 9D11, TCB 16D5 y TCB Mov19 a la sangre completa y se analizó la regulación por incremento de CD25 y CD69 en los linfocitos T $CD4^+$ y los linfocitos T $CD8^+$ por citometría de flujo. La TCB DP47 se incluyó como control negativo. No se pudo observar activación de los linfocitos T con ninguna de las construcciones sometidas a prueba al analizar la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$ (figura 9).

Ejemplo 17

Eliminación del sitio de N-glucosilación en la cadena ligera de 9D11

Durante el análisis de las diferentes proteínas de unión a FolR1 para identificar posibles puntos calientes de secuencia, se identificó un supuesto sitio de N-glucosilación al final de la CDR L3 del clon 9D11. Normalmente, el motivo consenso para la N-glucosilación se define como N-X-S/T-X (donde X no es P). La secuencia de CDR L3 (MQASIMNRT (SEQ ID NO: 46)) coincide perfectamente con este motivo consenso que tiene la secuencia N-R-T. Dado que la glucosilación podría no ser completamente reproducible entre diferentes lotes de producción, esto podría tener un impacto en la unión a FolR1, si la glucosilación en CDR L3 contribuye a la unión al antígeno. Para evaluar si este sitio de N-glucosilación es importante para la unión a FolR1, o si se podría reemplazar sin afectar a la unión, se generaron diferentes variantes de la cadena ligera de 9D11 en las que el sitio de N-glucosilación se intercambió por mutagénesis específica de sitio.

1. Transfección y producción transitorias

Las cuatro moléculas biespecíficas de linfocitos T se produjeron de forma transitoria en células EBK HEK293 usando un procedimiento de transfección mediado por PEI para los vectores requeridos como se describe a continuación. Las células HEK293 EBNA se cultivaron en suspensión sin suero en medio de cultivo CD CHO. Para la producción en un matraz de agitación de 500 ml, se sembraron 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección (para escalas alternativas, todas las cantidades se ajustaron en consecuencia). Para la transfección, las células se centrifugaron durante 5 min a 210 x g y el sobrenadante se reemplazó por 20 ml de medio CD CHO precalentado. Los vectores de expresión se mezclaron en 20 ml de medio CD CHO hasta una cantidad final de 200 µg de ADN. Después de la adición de 540 µl, la solución de PEI se mezcló con una agitadora vorticial durante 15 s y posteriormente se incubó durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclaron con la solución de ADN/PEI, se transfirieron a un matraz de agitación de 500 ml y se incubaron durante 3 horas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después del tiempo de incubación, se añadieron 160 ml de medio F17 y las células se cultivaron durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añadió ácido valpórico 1 mM y medio Feed 1 al 7 %. Después de un cultivo de 7 días, se recogió el sobrenadante para la purificación mediante centrifugación durante 15 min a 210 x g, la solución se filtró en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm) y se añadió acida de sodio hasta una

concentración final de 0,01 % (p/v) y se mantuvo a 4 °C. Después de la producción, se obtuvieron los sobrenadantes y se filtraron los sobrenadantes que contenían anticuerpos a través de filtros estériles de 0,22 µm y se almacenaron a 4 ºC hasta su purificación.

2. Purificación de anticuerpos

Todas las moléculas se purificaron en dos etapas usando procedimientos estándar, tales como cromatografía de afinidad con proteína A (Äkta Explorer) y cromatografía de exclusión por tamaño. El sobrenadante obtenido de la producción transitoria se ajustó a pH 8,0 (usando TRIS 2 M, pH 8,0) y se aplicó a una columna HiTrap PA HP (GE Healthcare, volumen de columna (VC) = 5 ml) equilibrada con 8 volúmenes de columna (VC) de tampón A (fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, NaCl 0,5 M, Tween-20 al 0,01 %, pH 7,5). Después de lavar con 10 VC de *tampón A,* la proteína se eluyó usando un gradiente de pH para *tampón B* (citrato de sodio 20 mM, pH 2,5, NaCl 0,5 M, Tween-20 al 0,01 %) en 20 VC. Las fracciones que contenían la proteína de interés se agruparon y el pH de la solución se ajustó suavemente a pH 6,0 (usando Tris 2 M, pH 8,0). Las muestras se concentraron a 1 ml usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius) y posteriormente se aplicaron a una columna Superdex™ 200 10/300 GL (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, pH 6,0, NaCl 140 mM, Tween-20 al 0,01 %. El contenido agregado de las fracciones eluidas se analizó por cromatografía analítica de exclusión por tamaño. Por lo tanto, se aplicaron 30 µl de cada fracción a una columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh) equilibrada en K_2HPO_4 25 mM, NaCl 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, NaN_3 al 0,02 % (p/v), tampón de migración a pH 6,7, a 25 °C. Se combinaron las fracciones que contenían menos de un 2 % de oligómeros y se concentraron a una concentración final de 1-1,5 mg/ml usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius). Se determinó la concentración de proteína midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos. La pureza y el peso molecular de las construcciones se analizaron mediante electroforesis capilar-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor siguiendo las instrucciones del fabricante (instrumento Caliper LabChipGX, Perkin Elmer). Las proteínas purificadas se congelaron en N_2 líquido y se almacenaron a -80 °C.

3. Temperatura de agregación

La estabilidad de las cuatro construcciones se sometió a prueba en un Optim 1000 (Avacta, PALL Corporation) mediante un gradiente de calentamiento de 25 °C a 80 °C a 0,1 °C/min. Se registra la temperatura al inicio de la agregación.

Tabla 34: Rendimiento, contenido de monómero y temperatura de agregación de cuatro mutantes inactivados en el sitio de N-glucosilación de la proteína de unión 9D11 en el formato biespecífico de linfocitos T 2+1 invertido. Los cuatro mutantes se comportaron de manera similar a la proteína de unión 9D11 natural

Clon	**Mutación**	**Rendimiento [mg/l]**	**Monómero [%]**	**Temperatura de agregación**
9D11	T102N	1,34	97	56°
9D11	T102A	1,29	100	56°
9D11	N100Q	2,5	100	56°
9D11	N100S	2,05	100	56°
9D11	-	2,6	100	57°

Se generaron las siguientes variantes: N100S (N95S); N100Q (N95Q), T102A (T97A) y T102N (T97N) (la numeración de Kabat se indica entre paréntesis) y se convirtieron al formato biespecífico de linfocitos T. Después de la producción transitoria en células HEK293 EBNA y la purificación, se analizaron las diferentes variantes para determinar la actividad de unión a la diana y destrucción celular en comparación con el clon 9D11 original.

N.º	Intercambio de aminoácidos	Cebador de mutagénesis
1	N95S	GAB-7735
2	N95Q	GAB-7734
3	T97A	GAB7736
4	T97N	GAB-7737

Tabla 17: Cebadores usados para la eliminación del sitio de N-glucosilación en CDR L3 de 9D11 (las secuencias se muestran a continuación)

Ejemplo 18

Unión y destrucción mediada por linfocitos T con variantes aglucosiladas de 9D11

Debido a un sitio de glucosilación en las CDR, se produjeron cuatro variantes de 9D11 diferentes con una mutación que elimina el sitio de glucosilación (ejemplo 17). Estas cuatro variantes se sometieron a prueba en comparación con el 9D11 original en cuanto a la unión a FolR1 en células HeLa (figura 10) y la inducción de la destrucción de células tumorales en SKOV3 y HT-29 (figuras 11A-B, E-F). Ninguna de las variantes mostró diferencias en cuando a la unión o inducción de la destrucción de células tumorales. En paralelo, se abordó la destrucción inespecífica de las líneas celulares MKN-45 negativas para FolR1 (figuras 11C-D). Además, no se pudieron observar diferencias entre las variantes y la proteína de unión original. Ninguna de las construcciones indujo destrucción inespecífica en las células tumorales negativas para FolR1.

Ejemplo 19

Expresión de FolR1 en células epiteliales primarias

FolR1 se expresa a niveles bajos en las células epiteliales primarias. Aquí queríamos someter a prueba si estos niveles son suficientes para inducir la destrucción mediada por linfocitos T en presencia de las TCB FolR1. Para ello, usamos células epiteliales bronquiales humanas primarias, células epiteliales del plexo coroideo humana primarias, células epiteliales corticales renales humanas primarias y células epiteliales de pigmento retiniano humanas primarias. Como control positivo se incluyeron células HT-29 o células SKOV3 positivas para FolR1. En primer lugar, verificamos la expresión de FolR1 en las células primarias usadas y determinamos la cantidad de sitios de unión a FolR1 en estas células. Las células epiteliales bronquiales, las células epiteliales corticales renales y las células epiteliales de pigmento retiniano expresan niveles muy bajos pero significativos de FolR1 en comparación con los niveles expresados en células tumorales. Las células epiteliales del plexo coroideo no expresan niveles significativos de FolR1.

Tabla 18: Sitios de unión a FolR1 en células epiteliales primarias

Línea celular	Sitios de unión
Epitelio bronquial	492
Epitelio del plexo coroideo	104
Epitelio cortical renal	312
Epitelio del pigmento retiniano	822
Skov3	69.890

Las células epiteliales primarias que demostraron expresión de FolR1 en la superficie se usaron para abordar la cuestión de si estas células se pueden destruir por linfocitos T en presencia de las TCB FolR1. No se pudieron medir niveles significativos de destrucción, pero se detectó inducción de la activación de los linfocitos T en presencia de células epiteliales de pigmento retiniano, células epiteliales bronquiales y células corticales renales, dando como resultado una regulación por incremento de CD25 y CD69. La activación más fuerte se observa con las células epiteliales de pigmento retiniano, dando como resultado una regulación por incremento de CD25 y CD69 tanto en linfocitos T $CD4^+$ como en linfocitos T $CD8^+$. En presencia de células epiteliales bronquiales se induce una menor activación de linfocitos T con regulación por incremento de CD69 en linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$, pero con una regulación por incremento muy baja de CD25 solo en linfocitos T $CD4^+$ pero no en linfocitos T $CD8^+$. La activación más baja de linfocitos T se obtiene en presencia de células epiteliales renales, sin regulación por incremento de CD25 en linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$ y observando regulación por incremento de CD69 solo en linfocitos T $CD8^+$ (figuras 12A-X).

Ejemplo 20

Comparación de diferentes formatos de TCB que contienen proteína de unión 16D5 o 9D11

Para determinar si el formato TCB 2+1 invertido es el formato más activo con la proteína de unión a FolR1 seleccionada, se produjeron diferentes formatos que contenían 16D5 o 9D11 y se compararon en cuanto a la unión a células diana, la destrucción mediada por linfocitos T y la activación de linfocitos T. La proteína de unión 16D5 se sometió a prueba en los formatos TCB 2+1 invertido (Fig. 1A), TCB 2+1 clásico (Fig. 1D), TCB 1+1 clásico (Fig. 1C) y TCB 1+1 cabeza a cola (Fig. 1B); la proteína de unión 9D11 se sometió a prueba en los formatos TCB 2+1 invertido (Fig. 1A), TCB 1+1 clásico (Fig. 1C) y TCB 1+1 cabeza a cola (Fig. 1B).

Todas las construcciones se sometieron a prueba para determinar la unión a FolR1 en células HeLa. Las moléculas bivalentes para la unión a FolR1 se unen más fuertemente en comparación con las construcciones monovalentes debido a la avidez. La diferencia entre las construcciones bivalentes y las monovalentes es más pronunciada para 16D5. El motivo podría ser que, debido a la menor afinidad de 16D5, el efecto de avidez para esta proteína de unión es más fuerte. Entre las dos TCB 1+1 no existe una diferencia significativa en cuando a la unión, pero existe diferencia entre las dos construcciones 2+1. La construcción 2+1 invertida se une más fuertemente a FolR1 que la construcción

2+1 clásica. Esto indica que, en la construcción 2+1 clásica la unión a FolR1 está influenciada por la presencia de Fab CD3, mientras que en la construcción invertida la unión está menos influenciada.

Al someter a prueba la destrucción mediada por linfocitos T con estas construcciones, podríamos demostrar que la unión más fuerte de la TCB 2+1 invertida se traduce en una destrucción de células tumorales más fuerte y una activación de linfocitos T más fuerte en comparación con la TCB 2+1 clásica. La construcción TCB FolR1 16D5 2+1 clásica es solo ligeramente más activa que la respectiva construcción 1+1 cabeza a cola. La construcción 1+1 cabeza a cola es significativamente más activa que la construcción 1+1 clásica. Esto no refleja la situación observada en la unión y se podría deber a una mejor reticulación con la construcción cabeza a cola. La destrucción global de las células tumorales y la activación de linfocitos T son comparables con todas las construcciones sometidas a prueba, observándose diferencias en la potencia solo en términos de valores de CE50. En general, se puede concluir que, independientemente de la proteína de unión usada, el formato TCB FolR1 2+1 invertido es el formato preferente para inducir la destrucción de células tumorales mediada por linfocitos T y la activación de linfocitos T (véanse las Fig. 13A-C y Fig. 14A-C).

Tabla 19: Valores de CE50 de unión a células diana y destrucción mediada por linfocitos T con diferentes formatos de TCB

Construcción	CE50 de unión (nM)	Destrucción tras 24 h (pM)	Destrucción tras 48 h (pM)
TCB FolR1 16D5 2+1 invertido	11,03	1,43	0,18
TCB FolR1 16D5 2+1 clásico	17,07	5,60	2,18
TCB FolR1 16D5 1+1 clásico	107,3	n.d.	n.d.
TCB FolR1 16D5 1+1 cabeza a cola	102,6	26,24	6,06
TCB FolR1 9D11 2+1 invertido	17,52	0,74	0,14
TCB FolR1 9D11 1+1 clásico	38,57	20,92	n.d.
TCB FolR1 9D11 1+1 cabeza a cola	44,20	4,73	n.d.

Tabla 20: Valores de CE50 de activación de linfocitos T en presencia de células SKOV3 con diferentes formatos de TCB

Construcción	CD4+CD25+ (%)	CD4+CD69+ (%)	CD8+CD25+ (%)	CD8+CD69+ (%)
TCB FolR1 16D5 2+1, invertido	1,96	0,33	2,10	n.d.
TCB FolR1 16D5 2+1, clásico	13,83	3,67	12,88	4,47
TCB FolR1 16D5 1+1, clásico	38,54	n.d.	n.d.	n.d.
TCB FolR1 16D5 1+1, cabeza a cola	17,14	7,47	25,15	n.d.
TCB FolR1 9D11 2+1, invertido	1,41	0,27	1,24	0,35
TCB FolR1 9D11 1+1, clásico	34,01	n.d.	34,39	7,40
TCB FolR1 9D11 1+1, cabeza a cola	3,73	2,47	4,98	2,89

Ejemplo 21

Líneas celulares tumorales y células primarias

Se obtuvieron células HeLa (CCL-2) de ATCC y se cultivaron en DMEM con FCS al 10 % y glutamina 2 mM, se obtuvieron células SKOV3 (HTB-77) de ATCC y se cultivaron en RPMI con FCS al 10 % y glutamina 2 mM, se obtuvieron células OVCAR5 de NCI y se cultivaron en RPMI con FCS al 10 % y glutamina 2 mM, se obtuvieron células HT-29 (ACC-299) de DSMZ y se cultivaron en medio McCoy 5A con FCS al 10 % y glutamina 2 mM, se obtuvieron células MKN-45 (ACC-409) de DSMZ y se cultivaron en RPMI con FCS al 10 % y glutamina 2 mM.

Todas las células epiteliales primarias sometidas a prueba se obtuvieron de ScienCell Research Laboratories. Se cultivaron células de epitelio bronquial humano (HBEpiC, n.º cat. 3210) en medio para células epiteliales bronquiales (BEpiCM, n.º cat. 3211, ScienCell). Se cultivaron células epiteliales del colon humano (HCoEpiC, n.º cat. 2950) en

medio para células epiteliales del colon (CoEpiCM, n.º cat. 2951, ScienCell). Se cultivaron células epiteliales de pigmento retiniano humanas (HRPEpiC, n.º cat. 6540) en medio de células epiteliales (EpiCM, n.º cat. 4101, ScienCell). Se cultivaron células epiteliales corticales renales humanas (HRCEpiC, n.º cat. 4110) en medio de células epiteliales (EpiCM, n.º cat. 4101, ScienCell). Se cultivaron células epiteliales del plexo coroideo humanas (HCPEpiC, n.º cat. 1310) en medio de células epiteliales (EpiCM, n.º cat. 4101, ScienCell).

Ejemplo 22

Unión a células diana por citometría de flujo

Las células diana como se indica se recogieron con tampón de disociación celular, se lavaron con PBS y se resuspendieron en tampón FACS. La tinción de anticuerpos se realizó en una placa de 96 pocillos de fondo redondo. Por lo tanto, se sembraron 200.000 células por pocillo. La placa se centrifugó durante 4 min a 400 g y se retiró el sobrenadante. Los anticuerpos de prueba se diluyeron en tampón FACS y se añadieron 20 µl de la solución de anticuerpo a las células durante 30 min a 4 °C. Para eliminar el anticuerpo no unido, las células se lavaron dos veces con tampón FACS antes de la adición del anticuerpo secundario diluido (anticuerpo caprino AffiniPure de fragmento F(ab')2 específico del fragmento Fcγ anti-IgG humana conjugado con FITC, Jackson ImmunoResearch n.º 109-096-098 o anticuerpo caprino AffiniPure de fragmento F(ab')2 específico del fragmento Fcγ anti-IgG humana conjugado con PE, Jackson ImmunoResearch n.º 109-116-170). Después de 30 min de incubación a 4 °C, el anticuerpo secundario no unido se eliminó por lavado. Antes de la medición, las células se resuspendieron en 200 µl de tampón FACS y se analizaron por citometría de flujo usando Canto II de BD o Fortessa de BD.

Ejemplo 23 Internalización

Se recogieron las células y se determinó la viabilidad. Las células se resuspendieron en medio frío reciente a 2 millones de células por ml y la suspensión celular se transfirió a un tubo Falcon de 15 ml para cada anticuerpo. Los anticuerpos que debían someterse a prueba para determinar la internalización se añadieron a las células a una concentración final de 20 µg por ml. Los tubos se incubaron durante 45 min en la cámara fría en un agitador. Después de la incubación, las células se lavaron tres veces con PBS frío para eliminar los anticuerpos no unidos. Se transfirieron 0,2 millones de células por pocillo a la placa FACS como punto temporal cero. Las células marcadas se resuspendieron en medio tibio y se incubaron a 37 °C. En los puntos temporales indicados, se transfirieron 0,2 millones de células por pocillo en PBS frío, se lavaron en la placa FACS. Para detectar las construcciones que permanecen en la superficie, las células se tiñeron con anticuerpo secundario anti-Fc humano marcado con PE. Por lo tanto, se añadieron 20 µl por pocillo del anticuerpo diluido y la placa se incubó durante 30 min a 4 °C. A continuación, las células se lavaron dos veces para eliminar los anticuerpos no unidos y se fijaron con PFA al 1 % para evitar cualquier internalización adicional. La fluorescencia se midió usando FACS Canto II de BD.

Ejemplo 24

Análisis QIFIKIT®

QIFIKIT® contiene una serie de microesferas de 10 µm de diámetro y recubiertas con cantidades diferentes, pero bien definidas de moléculas Mab de ratón (anti-CD5 humano de alta afinidad, Clon CRIS-1, isotipo IgG2a). Las microesferas imitan células con diferentes densidades de antígeno que se han marcado con un Mab de ratón primario de isotipo IgG. En resumen, las células se marcaron con anticuerpo monoclonal primario de ratón dirigido contra el antígeno de interés. En un pocillo de prueba separado, las células se marcaron con anticuerpo monoclonal de ratón irrelevante (control de isotipo). A continuación, las células, las microesferas de configuración y las microesferas de calibración se marcaron con un anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con fluoresceína incluido en el kit. El anticuerpo primario usado para marcar las células se tiene que usar a concentración saturante. El anticuerpo primario puede ser de cualquier isotipo de IgG de ratón. En estas condiciones, el número de moléculas de anticuerpo primario unidas corresponde al número de sitios antigénicos presentes en la superficie celular. El anticuerpo secundario también se usa a concentración saturante. En consecuencia, la fluorescencia se correlaciona con el número de moléculas de anticuerpo primario unidas en las células y en las microesferas.

Ejemplo 25

Destrucción de células tumorales mediada por linfocitos T y activación de linfocitos T

Las células diana se recogieron con tripsina/EDTA, se contaron y se verificó su viabilidad. Las células se resuspendieron en su medio respectivo a una concentración final de 300.000 células por ml. A continuación, se transfirieron 100 µl de la suspensión de células diana a cada pocillo de una placa de 96 pocillos de fondo plano. La placa se incubó durante la noche a 37 °C en la incubadora para permitir la adherencia de las células a la placa. Al día siguiente, se aislaron PBMC de sangre completa de donantes sanos. La sangre se diluyó 2:1 con PBS y se superpuso en 15 ml de Histopaque-1077 (n.º 10771, Sigma-Aldrich) en tubos Leucosep y se centrifugó durante 30 min a 450 x g sin interrupción. Después de la centrifugación, la banda que contenía las células se recogió con una pipeta de 10 ml y se transfirió a tubos de 50 ml. Los tubos se llenaron con PBS hasta 50 ml y se centrifugaron (400 x g, 10 min,

temperatura ambiente). El sobrenadante se eliminó y el sedimento se resuspendió en PBS. Después de la centrifugación (300 x g, 10 min, temperatura ambiente), se descartaron los sobrenadantes, se agruparon 2 tubos y se repitió la etapa de lavado (esta vez con centrifugación a 350 x g, 10 min, temperatura ambiente). Posteriormente, las células se resuspendieron y los sedimentos se agruparon en 50 ml de PBS para el recuento celular. Después de contarlas, las células se centrifugaron (350 x g, 10 min, temperatura ambiente) y se resuspendieron a 6 millones de células por ml en RPMI con FCS al 2 % y glutamina 2 nM. Se retiró el medio de las células diana sembradas y se añadieron los anticuerpos de prueba diluidos en RPMI con FCS al 2 % y glutamina 2 nM. Se transfirieron 300.000 células de la solución de células efectoras a cada pocillo, dando como resultado una proporción E:T de 10:1. Para determinar la liberación máxima, las células diana se lisaron con Triton X-100. La liberación de LDH se determinó después de 24 h y 48 h usando el kit de detección de citotoxicidad (n.º 1644793, Roche Applied Science). La regulación por incremento del marcador de activación en los linfocitos T después de la destrucción de las células tumorales se midió por citometría de flujo. En resumen, se recogieron los PBMC, se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se tiñeron con anticuerpos CD4 PE-Cy7 (n.º 3557852, BD Bioscience), CD8 FITC (n.º 555634, BD Bioscience), CD25 APC (n.º 555434, BD Bioscience), CD69 PE (n.º 310906, BioLegend) diluidos en tampón FACS. Después de 30 min de incubación a 4 °C, las células se lavaron dos veces con tampón FACS. Antes de medir la fluorescencia usando Canto II de BD, las células se resuspendieron en 200 µl de tampón FACS.

Ejemplo 26

Activación de linfocitos T en sangre completa

Se añadieron 280 µl de sangre fresca a una placa de pocillos profundos cónicos de 96 pocillos. A continuación, se añadieron a la sangre 20 µl de las TCB diluidas y se mezclaron bien agitando la placa. Después de 24 h de incubación a 37 °C en una incubadora, la sangre se mezcló y se transfirieron 35 µl a una placa de 96 pocillos de fondo redondo. A continuación, se añadieron 20 µl de la mezcla de tinción de anticuerpos que consistía en CD4 PE-Cy7 (n.º 3557852, BD Bioscience), CD8 FITC (n.º 555634, BD Bioscience), CD25 APC (n.º 555434, BD Bioscience), CD69 PE (n.º 310906, BioLegend) y CD45 V500 (n.º 560777, BD Horizon) y se incubaron durante 15 min en oscuridad a temperatura ambiente. Antes de la medición, se añadieron 200 µl de solución de lisis FACS de BD recién preparada (n.º 349202, BD FCAS) a la sangre. Después de 15 min de incubación a temperatura ambiente, las células se sometieron a medición con Fortessa de BD.

Ejemplo 27

Estudio SDPK (farmacocinética de dosis única) de TCB FolR1 humanizada (clon 16D5) en ratones NOD/Shi-scid/IL-2Rγnull (NOG) inmunodeficientes

Ratones NOD/Shi-scid/IL-2Rγnull (NOG) hembra de 6-7 semanas de edad al inicio del experimento (adquiridos a Taconic, Dinamarca) se mantuvieron en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz y 12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). Las autoridades gubernamentales locales revisaron y aprobaron el protocolo del estudio experimental (P 2011/128). Después de su llegada, se mantuvo a los animales durante una semana para que se acostumbraran al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento de salud continuo de manera regular.

Los ratones recibieron una inyección i.v. con 10/1/0,1 µg de TCB FolR1 por ratón, mientras que a 3 ratones por grupo y punto temporal se les extrajo una muestra de sangre. Todos los ratones recibieron una inyección i.v. con un volumen total de 200 µl de la solución apropiada. Para obtener la cantidad apropiada de TCB FolR1 por 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS cuando fue necesario. Se recogieron muestras de suero 5 min, 1 h, 3 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h y 168 h después de la inyección de tratamiento.

La figura 15 muestra que la TCB FolR1 16D5 muestra propiedades farmacocinéticas similares a IgG típicas y proporcionales a la dosis en ratones NOG con aclaramiento lento.

Tabla 21

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
TCB FolR1 (16D5)	10 µg (correspondiente a aprox. 0,5 mg/kg)	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,43 (= solución madre)
TCB FolR1 (16D5)	1 µg (correspondiente a aprox. 0,05 mg/kg)	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,43 (= solución madre)
TCB FolR1 (16D5)	0,1 µg (correspondiente a aprox. 0,005 mg/kg)	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,43 (= solución madre)

Ejemplo 28

Eficacia *in vivo* de TCB FolR1 (clon 16D5) después de la transferencia de PBMC humanos en ratones NOG portadores de Skov3

La TCB FolR1 se sometió a prueba en la línea celular de carcinoma de ovario humano Skov3, inyectada s.c. en ratones NOG con PBMC injertados.

Las células de carcinoma de ovario Skov3 se obtuvieron de ATCC (HTB-77). La línea celular tumoral se cultivó en RPMI que contenía FCS al 10 % (Gibco) a 37 ºC en una atmósfera saturada de agua con CO_2 al 5 %. Se usó el pase 35 para el trasplante, a una viabilidad >95 %. Se inyectaron s.c. 5 x 10^6 células por animal en el flanco derecho de los animales en un total de 100 µl de medio de cultivo celular RPMI (Gibco).

Ratones NOD/Shi-scid/IL-2Rγnull (NOG) hembra de 6-7 semanas de edad al inicio del experimento (adquiridos a Taconic, Dinamarca) se mantuvieron en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz y 12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). Las autoridades gubernamentales locales revisaron y aprobaron el protocolo del estudio experimental (P 2011/128). Después de su llegada, se mantuvo a los animales durante una semana para que se acostumbraran al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento de salud continuo de manera regular.

De acuerdo con el protocolo (figura 16), los ratones recibieron una inyección s.c. el día 0 de estudio con 5 x 10^6 células Skov3. El día 21 de estudio, los PBMC humanos de un donante sano se aislaron mediante el procedimiento de Ficoll y se inyectaron 10 x 10^6 células i.p. en los ratones portadores de tumor. Dos días después, los ratones se aleatorizaron y se distribuyeron por igual en cinco grupos de tratamiento (n = 12), seguido de inyección i.v. con 10/1/0,1 µg de TCB FolR1 por ratón o 10 µg de DP47 por ratón como TCB de control una vez por semana durante tres semanas. Los ratones recibieron una inyección i.v. de 200 µl de la solución apropiada.

Los ratones del grupo de vehículo recibieron una inyección con PBS. Para obtener la cantidad apropiada de TCB por 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS cuando fue necesario. El crecimiento del tumor se midió una vez por semana usando un calibrador (figura 17) y el volumen del tumor se calculó como sigue:

T_v: (W^2/2) x L *(W: Anchura, L: Longitud)*

La inyección semanal de TCB FolR1 dio como resultado un efecto antitumoral dependiente de la dosis. Mientras que una dosis de 10 µg/ratón y 1 µg/ratón indujeron la reducción del volumen tumoral, 0,1 µg/ratón indujo una estasis tumoral (figura 17, tabla 22). La reducción máxima del volumen tumoral se logró a una dosis de 10 µg/ratón en comparación con una TCB de control DP47 no dirigida.

Tabla 22

Compuesto	Dosis	Inhibición del crecimiento tumoral
TCB DP47 (TCB de control)	10 µg (correspondiente a aprox. 0,5 mg/kg)	7 %
TCB FolR1 (16D5)	10 µg (correspondiente a aprox. 0,5 mg/kg)	90 %
TCB FolR1 (16D5)	1 µg (correspondiente a aprox. 0,05 mg/kg)	74 %
TCB FolR1 (16D5)	0,1 µg (correspondiente a aprox. 0,005 mg/kg)	56 %

Para las lecturas de PD, se sacrificaron tres ratones por grupo de tratamiento el día 32 de estudio, se extirparon los tumores y se prepararon suspensiones de células individuales a través de una digestión enzimática con Colagenasa V, Dispasa II y DNasa para el posterior análisis FACS (figuras 19 y 20). Las células individuales se usaron directamente para la tinción de antígenos extracelulares y marcadores de activación o se reestimularon usando 5 ng/ml de PMA y 500 ng/ml de ionomicina en presencia de un inhibidor del transporte de proteínas monensina durante 5 h en medio de cultivo normal. Después de la reestimulación, las células se tiñeron para antígenos de superficie, seguido de una etapa de fijación y permeabilización. Las muestras fijadas se tiñeron intracelularmente para TNF-α, IFN-γ, IL-10 e IL-2 y se analizaron por citometría de flujo. Se usó el mismo procedimiento para la desgranulación de las células, pero se añadió un anticuerpo anti-CD107a durante el período de reestimulación y las muestras fijadas se tiñeron para el contenido intracelular de perforina y granzima B. El análisis FACS reveló un número estadísticamente mayor de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ infiltrantes en el tejido tumoral tras el tratamiento con TCB FolR1 en comparación con el vehículo y la TCB de control no dirigida. Además, se detectaron números mayores de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ que producían TNF-α, IFN-β e IL-2, así como positivos para perforina/granzima B en tumores tratados con TCB FolR1. Los linfocitos T infiltrantes

de tumor tratados con TCB FolR1 también mostraron mayores tasas de desgranulación en comparación con los grupos de control.

Al finalizar el estudio el día 38, todos los animales fueron sacrificados; se extirparon los tumores y se pesaron (figura 18). El peso de los tumores tratados con 10 y 1 µg de TCB FolR1 por ratón mostró una diferencia estadísticamente significativa en comparación con los grupos de control.

Tabla 23

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
PBS			
TCB FolR1 (16D5)	10 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,88 (= solución madre)
TCB FolR1 (16D5)	1 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,88 (= solución madre)
TCB FolR1 (16D5)	0,1 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,88 (= solución madre)
TCB DP47	10 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	4,35 (= solución madre)

Ejemplo 29

Generación de un anticuerpo biespecífico FolR1/CD3-kappa-lambda

Para generar un anticuerpo biespecífico (monovalente para cada antígeno) que se pueda unir simultáneamente a CD3 humano y al receptor de folato humano alfa (FolR1) sin usar ningún enfoque de heterodimerización (por ejemplo, tecnología de botón en ojal), se aplicó una combinación de una colección de cadenas ligeras comunes con la llamada tecnología CrossMab: la región variable de la proteína de unión a CD3 humanizada (CH2527_VL7 46/13) se fusionó con el dominio CH1 de un anticuerpo humano anti-IgG1 estándar para formar la molécula cruzada VLVH (fusionada con Fc) que es común para ambas especificidades. Para generar los equivalentes cruzados (VHCL), se fusionó un dominio de la cadena pesada variable específico para CD3 (CH2527_VH_23/12) a una cadena ligera λ humana constante, mientras que un dominio de la cadena pesada variable específico para FolR1 humano (clon 16D5, aislado de la colección de cadenas ligeras comunes) se fusionó con una cadena ligera κ humana constante. Esto permite la purificación del anticuerpo biespecífico deseado mediante la aplicación de etapas de purificación posteriores con las columnas KappaSelect y LambdaFabSelect (GE Healthcare) para eliminar los anticuerpos homodiméricos no deseados.

Todos los vectores de expresión de anticuerpos se generaron usando una tecnología de ADN recombinante estándar como se describe en Sambrook, J. *et al*., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1989. Los reactivos biológicos moleculares se usaron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los genes o fragmentos de genes se amplificaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o bien se generaron a partir de oligonucleótidos sintéticos en Geneart AG (Regensburg, Alemania) mediante síntesis génica automatizada. Los fragmentos de ADN amplificados por PCR o subclonados se confirmaron mediante secuenciación del ADN (Synergene GmbH, Suiza). El ADN plasmídico se transformó y amplificó en cepas huésped de *E. coli* adecuadas para la preparación de ADN plasmídico de calidad para la transfección usando kits Maxiprep (Qiagen) estándar. Para la producción de las moléculas biespecíficas, se transfectaron células HEK293 EBNA con plásmidos que codificaban los genes respectivos usando un procedimiento estándar basado en polietilenimina (PEI). La proporción de plásmido usada de los tres vectores de expresión fue 1:1:1. Las células transfectadas se cultivaron durante 7 días antes de que se recogieran los sobrenadantes para su purificación. Los anticuerpos biespecíficos FolR1/CD3-kappa-lambda se produjeron y purificaron como sigue.

1. Transfección y producción transitorias

El anticuerpo biespecífico kappa-lambda se produjo de forma transitoria en células EBK HEK293 usando un procedimiento de transfección mediado por PEI para los vectores requeridos como se describe a continuación. Las células HEK293 EBNA se cultivaron en suspensión sin suero en medio de cultivo CD CHO. Para la producción en un matraz de agitación de 500 ml, se sembraron 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección (para escalas alternativas, todas las cantidades se ajustaron en consecuencia). Para la transfección, las células se centrifugaron durante 5 min mediante 210 x g, el sobrenadante se reemplaza por 20 ml de medio CD CHO precalentado. Los vectores de expresión se mezclaron en 20 ml de medio CD CHO hasta una cantidad final de 200 µg de ADN. Después de la adición de 540 µl, la solución de PEI se mezcla con una agitadora vorticial durante 15 s y posteriormente se incuba durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclaron con la solución de ADN/PEI, se transfirieron a un matraz de agitación de 500 ml y se incubaron durante 3 horas a 37 °C en

una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después del tiempo de incubación, se añadieron 160 ml de medio F17 y las células se cultivaron durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añadió ácido valpórico 1 mM y medio Feed 1 al 7 %. Después de un cultivo de 7 días, se recogió el sobrenadante para la purificación mediante centrifugación durante 15 min a 210 x g, la solución se filtró en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm) y se añadió acida de sodio hasta una concentración final de 0,01 % (p/v) y se mantuvo a 4 °C.

2. Purificación

El anticuerpo biespecífico kappa-lambda se purificó en tres etapas, usando una etapa de afinidad específica para las cadenas ligeras kappa, seguida de una etapa de afinidad específica para las cadenas ligeras lambda y finalmente una etapa de cromatografía de exclusión por tamaño para la eliminación de agregados. El sobrenadante obtenido de la producción transitoria se ajustó a pH 8,0 (usando TRIS 2 M, pH 8,0) y se aplicó a una matriz de afinidad Capture Select kappa, o HiTrap KappaSelect, GE Healthcare, volumen de columna (VC) = 1 ml, equilibrada con 5 volúmenes de columna (VC) de *tampón A* (Tris 50 mM, glicina 100 mM, NaCl 150 mM, pH 8,0). Después de lavar con 15 VC de *tampón A,* la proteína se eluyó usando un gradiente de pH para *tampón B* (Tris 50 mM, glicina 100 mM, NaCl 150 mM, pH 2,0) en 25 VC. Las fracciones que contenían la proteína de interés se agruparon y el pH de la solución se ajustó a pH 8,0 (usando Tris 2 M, pH 8,0). Las fracciones agrupadas neutralizadas se aplicaron a una matriz de afinidad lambda Capture Select (ahora: HiTrap LambdaFabSelect, GE Healthcare, volumen de columna (VC) = 1 ml) equilibrada con 5 volúmenes de columna (VC) de *tampón A* (Tris 50 mM, glicina 100 mM, NaCl 150 mM, pH 8,0). Después de lavar con 15 VC de *tampón A,* la proteína se eluyó usando un gradiente de pH para *tampón B* (Tris 50 mM, glicina 100 mM, NaCl 150 mM, pH 2,0) en 25 VC. Las fracciones que contenían la proteína de interés se agruparon y el pH de la solución se ajustó a pH 8,0 (usando Tris 2 M, pH 8,0). Esta solución se concentró usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius) y posteriormente se aplicaron a una columna Superdex™ 200 10/300 GL (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, pH 6,0, NaCl 140 mM, Tween-20 al 0,01 %. Las fracciones agrupadas después de la cromatografía de exclusión por tamaño se concentraron nuevamente usando ultraconcentradores (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, Sartorius).

Se determinó la concentración de proteína midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos. La pureza y el peso molecular de las construcciones se analizaron mediante electroforesis capilar-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor siguiendo las instrucciones del fabricante (instrumento Caliper LabChipGX, Perkin Elmer). Solo se pudieron purificar pequeñas cantidades de proteína con un rendimiento final de 0,17 mg/l.

Ejemplo 30

Destrucción mediada por linfocitos T con anticuerpo biespecífico FolR1/CD3-kappa-lambda

La actividad de TCB FolR1 kappa lambda se sometió a prueba en células SKOV3 en presencia de PBMC recién aislados. Como control negativo se incluyó TCB DP47. La destrucción mediada por linfocitos T de células SKOV3 se determinó después de 24 h y 48 h por liberación de LDH. Después de 48 h, se recogieron los linfocitos T y se midió la regulación por incremento de CD69 y CD25 en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 por citometría de flujo.

La construcción FolR1 kappa lambda induce la destrucción de células SKOV3 de manera dependiente de la concentración, que va acompañada de una regulación por incremento de CD69 y CD25 tanto en linfocitos T CD4 como en linfocitos T CD8.

Las células SKOV3 se incubaron con PBMC en presencia de TCB DP47 o TCB FolR1 kappa lambda. Después de 24 h y 48 h, la destrucción de las células tumorales se determinó midiendo la liberación de LDH (Fig. 21). Las células SKOV3 se incubaron con PBMC en presencia de TCB DP47 o TCB FolR1 kappa lambda. Después de 48 h, se midió la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 por citometría de flujo (Fig. 22).

Ejemplo 31

Caracterización bioquímica de proteínas de unión a FolR1 16D5 y 36F2 por resonancia de plasmón superficial

La unión de 16D5 anti-FolR1 en diferentes formatos biespecíficos de linfocitos T monovalentes o bivalentes y de 36F2 anti-FolR1 como IgG o como linfocitos T biespecíficos para el receptor 1 de folato humano, de macaco y murino recombinante (todos como fusiones Fc) se evaluó por resonancia de plasmón superficial (SPR). Todos los experimentos de SPR se realizaron en un Biacore T200 a 25 °C con HBS-EP como tampón de migración (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %, Biacore, GE Healthcare).

1. Moléculas sometidas a prueba

Las moléculas usadas para la determinación de afinidad y avidez se describen en la tabla 24. Tabla 24: Nombre y descripción de las 6 construcciones usadas en el análisis por SPR

Denominación	Descripción
TCB 16D5	Formato biespecífico invertido 2+1 de linfocitos T (cadena ligera común)
TCB 16D5 clásico	Formato biespecífico clásico 2+1 de linfocitos T (cadena ligera común)
TCB 16D5 1+1	Formato biespecífico 1+1 de linfocitos T (cadena ligera común)
TCB 16D5 1+1 HT	Formato biespecífico 1+1 cabeza a cola de linfocitos T (cadena ligera común)
IgG 36F2	IgG1 humana con P329G LALA
TCB 36F2	Formato biespecífico invertido 2+1 de linfocitos T, crossfab

2. Avidez por el receptor 1 de folato

La avidez de la interacción entre las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 y los receptores de folato recombinantes se determinó como se describe a continuación (tabla 25).

Las fusiones Fc monoméricas biotiniladas recombinantes del receptor 1 de folato humano, de macaco y murino (FolR1-Fc) se acoplaron directamente en un chip SA usando las instrucciones de acoplamiento estándar (Biacore, GE Healthcare). El nivel de inmovilización fue de aproximadamente 300-400 UR. Las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 se pasaron a un intervalo de concentración de 3,7 a 900 nM con un caudal de 30 µl/minuto a través de las cubetas de lectura durante 180 segundos. Se supervisó la disociación durante 240 o 600 segundos. La superficie del chip se regeneró después de cada ciclo usando una inyección doble de 30 s de glicina-HCl 10 mM, pH 2. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en una cubeta de lectura de referencia inmovilizada con fusión Fc de CD 134 murino biotinilada recombinante. Las curvas de unión resultantes de la unión bivalente de las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T se aproximaron a una unión de Langmuir 1:1 (aunque es una unión 1:2) y se ajustaron con ese modelo para obtener una K_D aparente que representa la avidez de la unión bivalente. Las constantes de avidez aparente para las interacciones se derivaron de las constantes de velocidad del ajuste utilizando el programa informático Bia Evaluation (GE Healthcare). Para el formato biespecífico 1+1 de linfocitos T, la interacción es 1:1 real y la K_D representa la afinidad, ya que solo hay una proteína de unión a FolR1 en esta construcción.

Tabla 25: Unión bivalente (avidez con K_D aparente) de 16D5 y 36F2 anti-FolR1 como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano, de macaco y murino.

Analito	Ligando	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D aparente
IgG 36F2	**huFolR1**	2,07E+06	1,3E-02	6 nM
	cyFolR1	2,78E+06	1,75E-02	6 nM
	muFolR1	4,28E+05	8,23E-04	2 nM
TCB 36F2	**huFolR1**	2,45E+06	9,12E-03	4 nM
	cyFolR1	4,31E+06	1,45E-02	3 nM
	muFolR1	6,97E+05	9,51E-04	1 nM
TCB 16D5	**huFolR1**	1,57E+05	3,92E-04	3 nM
	cyFolR1	2,01E+05	3,81E-04	2 nM
TCB 16D5 clásico	**huFolR1**	2,04E+05	1,84E-04	0,9 nM
	cyFolR1	2,50E+05	3,05E-04	1 nM
TCB 16D5 1+1 HT	**huFolR1**	5,00E+04	2,25E-03	45 nM
	cyFolR1	5,75E+04	4,10E-03	70 nM
TCB 16D5 1+1	**huFolR1**	3,65E+04	2,04E-03	56 nM
	cyFolR1	4,09E+04	3,60E-03	90 nM

3. Afinidad por el receptor 1 de folato

La afinidad de la interacción entre las IgG o las moléculas biespecíficas de linfocitos T anti-FolR1 y los receptores de folato recombinantes se determinó como se describe a continuación (tabla 26).

Para la medición de afinidad, se realizó el acoplamiento directo de alrededor de 12000 unidades de resonancia (UR) del anticuerpo específico anti-Fab humano (kit de captura de Fab, GE Healthcare) en un chip CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (GE Healthcare). Se capturaron las IgG o las moléculas biespecíficas de

linfocitos T anti-FolR1 a 20 nM con un caudal de 10 µl/min durante 40 segundos, la cubeta de lectura de referencia se dejó sin captura. Se pasaron series de dilución (12,3 a 3000 nM) de fusión Fc con el receptor 1 de folato humano, de macaco y murino en todas las cubetas de lectura a 30 µl/min durante 240 segundos para registrar la fase de asociación. Se supervisó la fase de disociación durante hasta 300 s y se activó cambiando de la solución de muestra a HBS-EP. La superficie del chip se regeneró después de cada ciclo usando una inyección doble de 60 s de glicina-HCl 10 mM, pH 1,5. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia 1. Las constantes de afinidad para las interacciones se derivaron de las constantes de velocidad ajustando a una unión de Langmuir 1:1 usando el programa informático Bia Evaluation (GE Healthcare).

Tabla 26: Unión monovalente (afinidad) de 16D5 y 36F2 anti-FolR1 como IgG o como moléculas biespecíficas de linfocitos T (TCB) en FolR1 humano, de macaco y murino.

Analito	Ligando	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D
IgG 36F2	**huFolR1**	9,10E+04	6,65E-02	730 nM
	cyFolR1	1,02E+05	5,78E-02	570 nM
	muFolR1	8,32E+04	1,78E-02	210 nM
TCB 36F2	**huFolR1**	5,94E+04	6,13E-02	1000 nM
	cyFolR1	6,29E+04	5,42E-02	860 nM
	muFolR1	5,68E+04	1,75E-02	300 nM
TCB 16D5	**huFolR1**	2,23E+04	7,33E-04	33 nM
	cyFolR1	1,57E+04	1,60E-03	100 nM
TCB 16D5 clásico	**huFolR1**	1,03E+04	7,59E-04	74 nM
	cyFolR1	9,18E+03	1,61E-03	175 nM
TCB 16D5 1+1 HT	**huFolR1**	2,05E+04	7,08E-04	35 nM
	cyFolR1	1,67E+04	1,53E-03	92 nM
TCB 16D5 1+1	**huFolR1**	1,43E+04	9,91E-04	69 nM
	cyFolR1	1,20E+04	1,80E-03	150 nM

La afinidad (unión monovalente) por Fc-FolR1 humano y de macaco de TCB 36F2 es similar y alrededor de 1000 nM para ambos, mientras que la afinidad por Fc-FolR1 murino es ligeramente mejor y de alrededor de 300 nM. La 36F2 se puede usar en modelos murinos y de primates, no existiendo necesidad de un sustituto. La avidez (K_D aparente) de TCB 36F2 por FolR1 humano es aproximadamente 30 veces menor que la afinidad de la TCB 16D5 por FolR1 humano. En el formato bivalente, TCB 36F2 está en el intervalo nanomolar bajo, mientras que TCB 16D5 está en el intervalo picomolar bajo (diferencia de 1000 veces).

FolR1 se expresa en células tumorales sobreexpresadas, a niveles intermitentes y altos, en la superficie de las células cancerosas en un espectro de neoplasias malignas epiteliales, incluyendo los cánceres de ovario, mama, riñón, colorrectal, pulmón y otros cánceres sólidos, y también se expresa en la superficie apical de un subconjunto limitado de células epiteliales polarizadas en tejido normal. Estas células normales no tumorales expresan FolR1 solo a niveles bajos e incluyen, por ejemplo, células epiteliales bronquiolares en la superficie alveolar, borde luminal cortical renal de células tubulares, epitelio del pigmento retiniano (membrana basolateral) y plexo coroideo.

La TCB 16D5 se une a células de tejidos normales que expresan bajas cantidades de FolR1, lo que da como resultado su destrucción mediada por linfocitos T. Esto podría explicar, al menos en parte, la limitada tolerancia observada a 10 µg/kg en macacos cangrejeros. Los autores de la invención querían determinar si la disminución de la afinidad de la molécula biespecífica de linfocitos T podría incrementar la diferenciación entre los tejidos de alta y baja densidad de la diana y, de este modo, disminuir la toxicidad mediante el uso de la unión bivalente y la avidez. Las proteínas de unión de baja afinidad normalmente no se seleccionan como candidatos adecuados para un análisis posterior porque la baja afinidad se asocia a menudo con baja potencia y eficacia. No obstante, la proteína de unión a FolR1 de baja afinidad 36F2 se desarrolló en varios formatos y se caracterizó por sus propiedades biológicas. Para la 36F2 usada en el formato biespecífico bivalente de linfocitos T, el efecto de la avidez (diferencia entre la unión monovalente y bivalente) es de alrededor de 250 veces (1000 nM frente a 4 nM). A baja densidad de la diana, la afinidad definió la interacción y con 1000 nM dio lugar a una baja potencia de la TCB. Sin embargo, a alta densidad de la diana, la avidez de la molécula entra en juego y con 4 nM dio lugar a una alta actividad de la TCB (véase el ejemplo 32).

En un enfoque alternativo, los autores de la invención generaron formatos monovalentes de 16D5 y una variante de baja afinidad de 16D5 (afinidad de aproximadamente 10-40 nM) en un formato bivalente. La proteína de unión 16D5 usada en un formato monovalente (1+1) tiene una afinidad de aproximadamente 50 nM. La diferenciación entre tejidos de alta y baja densidad de la diana se puede lograr mejor aprovechando el efecto de avidez.

Ejemplo 32

Destrucción por linfocitos T de células SKov-3 inducida por TCB 36F2, TCB Mov19 y TCB 21A5

La destrucción por linfocitos T mediada por TCB 36F2, TCB Mov19 y TCB 21A5 se evaluó en células SKov-3 (expresión media de FolR1). Se usaron PBMC humanos como células efectoras y se detectó la destrucción tras 24 h y 48 h de incubación con los anticuerpos biespecíficos. En resumen, se recogieron células diana con tripsina/EDTA, se lavaron y se sembraron a una densidad de 25.000 células/pocillo usando placas de 96 pocillos de fondo plano. Se dejó que las células se adhirieran durante la noche. Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de donantes humanos sanos. Se diluyó la sangre recién obtenida con PBS estéril y se colocó en una capa sobre un gradiente de Histopaque (Sigma, n.º H8889). Después de la centrifugación (450 x g, 30 minutos, temperatura ambiente), se desechó el plasma por encima de la interfase que contenía los PBMC y se transfirieron los PBMC a un nuevo tubo Falcon llenado posteriormente con 50 ml de PBS. Se centrifugó la mezcla (400 x g, 10 minutos, temperatura ambiente), se desechó el sobrenadante y se lavó el sedimento de PBMC dos veces con PBS estéril (etapas de centrifugación 350 x g, 10 minutos). La población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio RPMI1640 que contenía FCS al 10 % y L-alanil-L-glutamina al 1 % (Biochrom, K0302) a 37 °C, CO_2 al 5 % en incubadora celular hasta su uso posterior (no más de 24 h). Para el ensayo de destrucción, se añadió el anticuerpo a las concentraciones indicadas (intervalo de 0,005 pM - 5 nM por triplicado). Se añadieron PBMC a células diana a una proporción E:T final de 10:1. Se evaluó la destrucción de células tumorales después de 24 h y 48 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 % por cuantificación de LDH liberada en sobrenadantes celulares por células apoptóticas/necróticas (kit de detección de LDH, Roche Applied Science, n.º 11 644 793 001). Se logró la lisis máxima de las células diana (= 100 %) por incubación de células diana con Triton X-100 al 1 %. Lisis mínima (= 0 %) se refiere a células diana coincubadas con células efectoras sin construcción biespecífica.

Los resultados muestran que la destrucción inducida por 36F2 se reduce fuertemente en comparación con TCB Mov19 y TCB 21A5 (figuras 23A-B). Los valores de CE50 relacionados con los ensayos de destrucción, calculados usando GraphPadPrism6 se resumen en la tabla 27.

Tabla 27: Valores de CE50 (pM) para la destrucción mediada por linfocitos T de células SKov-3 que expresan FolR1 inducida por TCB 36F2, TCB Mov19 y TCB 21A5.

	CE50 [pM]	
Anticuerpo	**24 h**	**48 h**
TCB 36F2	1406,07*	134,5
TCB Mov19	0,75	0,05
TCB 21A5	2,83	0,10

* *la curva no alcanzó la saturación, el valor es hipotético*

Ejemplo 33

Destrucción por linfocitos T inducida por TCB 36F2 y TCB 16D5 en diferentes formatos biespecíficos de linfocitos T monovalentes y bivalentes

Se evaluó la destrucción por linfocitos T mediada por anticuerpos TCB 36F2, TCB 16D5, TCB 16D5 clásico, TCB 16D5 1+1 y TCB 16D5 HT de células tumorales humanas HeLa (expresión alta de FolR1, aproximadamente 2 millones de copias, tabla 14, Fig. 27), Skov-3 (expresión media de FolR1, aproximadamente 70000-90000 copias, tabla 14, Fig. 27) y HT-29 (expresión baja de FolR1, aproximadamente 10000, tabla 14, Fig. 27). El anticuerpo TCB DP47 se incluyó como control negativo. Se usaron PBMC humanos como células efectoras y se detectó la destrucción tras 24 h de incubación con el anticuerpo biespecífico. En resumen, se recogieron células diana con tripsina/EDTA, se lavaron y se sembraron a una densidad de 25.000 células/pocillo usando placas de 96 pocillos de fondo plano. Se dejó que las células se adhirieran durante la noche. Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de donantes humanos sanos. Se diluyó la sangre recién obtenida con PBS estéril y se colocó en una capa sobre un gradiente de Histopaque (Sigma, n.º H8889). Después de la centrifugación (450 x g, 30 minutos, temperatura ambiente), se desechó el plasma por encima de la interfase que contenía los PBMC y se transfirieron los PBMC a un nuevo tubo Falcon llenado posteriormente con 50 ml de PBS. Se centrifugó la mezcla (400 x g, 10 minutos, temperatura ambiente), se desechó el sobrenadante y se lavó el sedimento de PBMC dos veces con PBS estéril (etapas de centrifugación 350 x g, 10 minutos). La población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio RPMI1640 que contenía FCS al 10 % y L-alanil-L-glutamina al 1 % (Biochrom, K0302) a 37 °C, CO_2 al 5 % en incubadora celular hasta su uso posterior (no más de 24 h). Para el ensayo de destrucción, se añadió el anticuerpo a las concentraciones indicadas (intervalo de 0,01 pM - 100 nM por triplicado). Se añadieron PBMC a células diana a una proporción E:T final de 10:1. Se evaluó la destrucción de células

tumorales después de 24 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 % por cuantificación de LDH liberada en sobrenadantes celulares por células apoptóticas/necróticas (kit de detección de LDH, Roche Applied Science, n.º 11 644 793 001). Se logró la lisis máxima de las células diana (= 100 %) por incubación de células diana con Triton X-100 al 1 %. Lisis mínima (= 0 %) se refiere a células diana coincubadas con células efectoras sin construcción biespecífica.

Los resultados muestran que la destrucción específica de diana de las tres líneas celulares diana que expresan FolR1 inducida por TCB 36F2 es mucho más débil en comparación con la destrucción inducida por TCB 16D5 (figuras 24A-C, tabla 29). La destrucción específica de diana inducida por las TCB 16D5 monovalentes (16D5 HT y 16D5 1+1) es peor en comparación con las TCB 16D5 bivalentes (TCB 16D5 y TCB 16D5 clásico). Los valores de CE50 relacionados con los ensayos de destrucción, calculados usando GraphPadPrism6 se resumen en la tabla 28. Es importante destacar que estos datos muestran que el uso de la proteína de unión a FolR1 36F2 en el formato bivalente TCB 2+1 amplía la ventana terapéutica en comparación con la TCB FolR1 16D5 (Fig. 24A-C). Mientras que la reducción de potencia entre la TCB FolR1 16D5 y 36F2 es de aproximadamente 45 veces para las células HeLa (expresión alta de FolR1, véase la tabla 28: TCB 16D5 de 0,8 frente a TCB 36F2 de 36,0) y de aproximadamente 297 veces para las células Skov3 (expresión FolR1 media, véase la tabla 28: TCB 16D5 de 0,6 frente a TCB 36F2 de 178,4), esta reducción es de casi 7000 veces para HT29 con baja expresión de FolR1 (véase la tabla 28: TCB 16D5 de 5,7 frente a TCB 36F2 de 39573). Por tanto, la TCB FolR1 36F2 diferencia entre las células de alta y baja expresión, lo que es de especial importancia para reducir la toxicidad, ya que las células de algunos tejidos normales no tumorales expresan niveles muy bajos de FolR1 (aproximadamente menos de 1000 copias por célula). De acuerdo con esta observación, los resultados discutidos en el ejemplo 35 a continuación muestran que TCB 36F2 no induce la destrucción por linfocitos T de las células primarias (figuras 26A-D), mientras que se puede observar una cierta destrucción para TCB 16D5 en células HRCEpiC y HRPEpiC después de 48 h de incubación (figuras 26B y C). Esta importante característica de TCB 36F2 permite la dosificación para el tratamiento de tumores positivos para FolR1, de modo que media en la destrucción potente de los tejidos tumorales con expresión alta o media de FolR1, pero no de tejidos normales con expresión baja (parcialmente polarizada). De forma destacable, esta característica parece estar mediada por la avidez de TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 invertido, ya que no se observó al usar los formatos 1+1 monovalentes que llevan la misma proteína de unión 36F2 de baja afinidad. Dicho de otra manera, TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 comprende restos de unión a FolR1 de afinidad relativamente baja, pero posee un efecto de avidez que permite la diferenciación entre células que expresan niveles altos y bajos de FolR1. Debido a que las células tumorales expresan FolR1 a niveles altos o intermedios, esta TCB se une selectivamente a las células tumorales y a las células normales no cancerosas que expresan FolR1 a niveles bajos o no lo hacen en absoluto.

Además de las características ventajosas anteriores, la TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 invertido también tiene la ventaja de que no requiere reticulación química u otro enfoque híbrido. Esto hace que sea adecuado para la fabricación de un medicamento para tratar a pacientes, por ejemplo, pacientes que tienen tumores cancerosos positivos para FolR1. La TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 invertido se puede producir usando procedimientos CHO estándar con bajos niveles de agregados. Además, la TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 comprende secuencias humanas y humanizadas que hacen que sea superior a moléculas que emplean polipéptidos de rata y ratón que son altamente inmunogénicos cuando se administran a seres humanos. Además, la TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 se genomanipuló para eliminar la unión a FcgR y, como tal, no causa reacciones de reticulación e infusión de FcgR, potenciando aún más su seguridad cuando se administra a pacientes.

Como lo demuestran los resultados descritos anteriormente, su geometría de cabeza a cola hace que la TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 invertido sea una molécula altamente potente que induce la destrucción absoluta de las células diana. Su bivalencia potencia la avidez y la potencia, pero también permite la diferenciación entre células con alta y baja expresión. Su preferencia por células diana con niveles altos o medios de expresión debido a su avidez reduce la toxicidad resultante de la destrucción mediada por linfocitos T de células normales que expresan FolR1 a niveles bajos.

Una ventaja adicional de la TCB 36F2 en el formato bivalente 2+1 y otros modos de realización divulgados en el presente documento es que su desarrollo clínico no requiere el uso de moléculas sustitutas, ya que se unen al FolR1 humano, de macaco y murino. Como tal, las moléculas divulgadas en el presente documento reconocen un epítopo diferente que los anticuerpos contra FolR1 descritos previamente que no reconocen FolR1 de ninguna de las tres especies.

Tabla 28: Valores de CE50 (pM) para destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales que expresan FolR1 inducida por TCB 36F2 y TCB 16D5 en diferentes formatos biespecíficos de linfocitos T monovalentes y bivalentes después de 24 h de incubación.

Anticuerpo	HeLa (expresión alta de FolR1)	Skov-3 (expresión media de FolR1)	HT-29 (expresión baja de FolR1)
TCB 16D5	0,8	0,6	5,7
TCB 16D5 clásico	4,6	2,0	13,0
TCB 16D5 HT	11,6	12,3	15,1

Anticuerpo	HeLa (expresión alta de FolR1)	Skov-3 (expresión media de FolR1)	HT-29 (expresión baja de FolR1)
TCB 16D5 1+1	23,8	48,9	883,8*
TCB 36F2	36,0	178,4	*39573,0****

*** la curva no alcanzó la saturación, es solo un valor hipotético*

La tabla 29 muestra una comparación de los valores de CE50 de TCB 16D5 y TCB 36F2 en las diferentes líneas celulares sometidas a prueba. A partir de los valores de CE50 obtenidos, se calculó el delta (CE50 de TCB 16D5 menos CE50 de TCB 36F2) y la diferencia en número de veces (CE50 de TCB 16D5 dividido por CE50 de TCB 36F2).

Tabla 29: Comparación de los valores de CE50 de TCB 16D5 y TCB 36F2.

Anticuerpo	HeLa (expresión alta de FolR1)	Skov-3 (expresión media de FolR1)	HT-29 (expresión baja de FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 36F2	35,99	178,40	39573,00*
Δ	35,17	177,77	39567,27
N.º de veces	43,83	284,61	6906,58

*** la curva no alcanzó la saturación, es solo un valor hipotético*

Los valores de CE50 calculados muestran claramente que la diferencia entre TCB 36F2 y TCB 16D5 aumenta cuanto menor es la expresión de FolR1 en las células diana.

Los mismos cálculos que se hicieron para la comparación de los valores de CE50 de TCB 16D5 y TCB 36F2 se realizaron para TCB 16D5 y las dos TCB 16D5 monovalentes (TCB 16D5 HT y 16D5 1+1). Las tablas 30 y 31 muestran las comparaciones de los valores de CE50 de TCB 16D5 frente a TCB 16D5 HT (tabla 30) y TCB 16D5 frente a TCB 16D5 1+1 (tabla 31), así como los deltas (CE50 de TCB 16D5 menos CE50 de TCB 16D5 HT/1+1) correspondientes y las diferencias en número de veces (CE50 de TCB 16D5 dividido por CE50 de TCB 16D5 HT/1+1).

Tabla 30: Comparación de los valores de CE50 de TCB 16D5 (2+1 invertido) y TCB 16D5 HT.

Anticuerpo	HeLa (expresión alta de FolR1)	Skov-3 (expresión media de FolR1)	HT-29 (expresión baja de FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 16D5 HT	11,61	12,27	15,11
Δ	10,79	11,65	9,38
N.º de veces	14,14	19,58	2,64

Tabla 31: Comparación de los valores CE50 de TCB 16D5 y TCB 16D5 1+1.

Anticuerpo	HeLa (expresión alta de FolR1)	Skov-3 (expresión media de FolR1)	HT-29 (expresión baja de FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 16D5 1+1	23,84	48,86	883,78*
Δ	23,02	48,24	878,05
N.º de veces	29,03	77,95	154,24

* *la curva no alcanzó la saturación, es solo un valor hipotético*

La comparación de los valores de CE50 de TCB 16D5 y TCB 36F2 (tabla 29) muestra que la diferencia en los valores de CE50 aumenta cuanto menor es la expresión de FolR1 en las células diana. Este efecto no se puede ver en la comparación de TCB 16D5 y las TCB 16D5 monovalentes (tabla 29 y tabla 30). Para TCB 16D5 1+1 (tabla 31) también existe un ligero incremento en la diferencia entre la CE50 de TCB 16D5 y de TCB 16D5 1+1 con la disminución de la expresión de FolR1, pero no tan pronunciado como se puede observar en la comparación de TCB 16D5 frente a TCB 36F2.

Ejemplo 34

Regulación por incremento de CD25 y CD69 en células efectoras CD8⁺ y CD4⁺ después de la destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales que expresan FolR1 inducida por el anticuerpo TCB 36F2 y TCB 16D5

La activación de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ después de la destrucción mediada por linfocitos T de células tumorales HeLa, SKov-3 y HT-29 que expresan FolR1 mediada por TCB 36F2 y TCB 16D5 se evaluó mediante análisis FACS usando anticuerpos que reconocen los marcadores de activación de linfocitos T CD25 (marcador de activación tardía) y CD69 (marcador de activación temprana). La TCB DP47 se incluyó como control de unión negativa. El anticuerpo y las condiciones del ensayo de destrucción fueron esencialmente como se describe anteriormente (ejemplo 32), usando el mismo intervalo de concentraciones de anticuerpo (0,01 nM - 100 nM por triplicado), proporción E:T 10:1 y un tiempo de incubación de 48 h.

Después de la incubación, se transfirieron PBMC a una placa de 96 pocillos de fondo redondo, se centrifugaron a 400 x g durante 4 min y se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 0,1 %. Se realizó la tinción de superficie para CD8 (anti-CD8 humano PE, BD n.º 555635), CD4 (anti-CD4 humano Brilliant Violet 421™, Biolegend n.º 300532), CD69 (anti-CD69 humano FITC, BD n.º 555530) y CD25 (anti-CD25 humano APC, BD n.º 555434) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se lavaron dos veces con 150 µl/pocillo de PBS que contenía BSA al 0,1 %. Después de la centrifugación, las muestras se resuspendieron en 200 µl/pocillo de PBS con BSA al 0,1 % para la medición de FACS. Se analizaron las muestras en FACS Canto II de BD.

La TCB 36F2 indujo una regulación por incremento específica de diana de los marcadores de activación (CD25, CD69) en linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ después de destruir las células HeLa (figura 25A) y SKov-3 (figura 25B). En comparación con TCB 16D5, la regulación por incremento de CD25 y CD69 en linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ inducida por 36F2 es mucho más débil.

En HT-29 (expresión baja de FolR1), solo se puede ver una regulación por incremento de los marcadores de activación a la concentración más alta de TCB 36F2. Por el contrario, con TCB 16D5, la regulación por incremento de CD25 y CD69 se puede observar ya a concentraciones de anticuerpos mucho más bajas (figura 25C).

Como se observa también en el experimento de lisis tumoral, el análisis de los marcadores de activación (CD25 y CD69) en linfocitos T (CD4⁺ y CD8⁺) después de la destrucción muestra claramente que la diferencia entre TCB 16D5 y TCB 36F2 se hace mayor cuanto menor es el nivel de expresión de FolR1 en las celdas diana.

Ejemplo 35

Destrucción por linfocitos T de células primarias inducida por TCB 36F2 y TCB 16D5

La destrucción por linfocitos T mediada por TCB 36F2 y TCB 16D5 se evaluó en células primarias (células epiteliales corticales renales humanas (HRCEpiC) (ScienCell Research Laboratories; n.º cat. 4110) y células epiteliales de pigmento retiniano humanas (HRPEpiC) (ScienCell Research Laboratories; n.º cat. 6540)). Las células HT-29 (expresión baja de FolR1) se incluyeron como línea celular de control. TCB DP47 sirvió como control sin unión. Se usaron PBMC humanos como células efectoras y se detectó la destrucción tras 24 h y 48 h de incubación con los anticuerpos biespecíficos. En resumen, se recogieron células diana con tripsina/EDTA, se lavaron y se sembraron a una densidad de 25.000 células/pocillo usando placas de 96 pocillos de fondo plano. Se dejó que las células se adhirieran durante la noche. Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de donantes humanos sanos. Se diluyó la sangre recién obtenida con PBS estéril y se colocó en una capa sobre un gradiente de Histopaque (Sigma, n.º H8889). Después de la centrifugación (450 x g, 30 minutos, temperatura ambiente), se desechó el plasma por encima de la interfase que contenía los PBMC y se transfirieron los PBMC a un nuevo tubo Falcon llenado posteriormente con 50 ml de PBS. Se centrifugó la mezcla (400 x g, 10 minutos, temperatura ambiente), se desechó el sobrenadante y se lavó el sedimento de PBMC dos veces con PBS estéril (etapas de centrifugación 350 x g, 10 minutos). La población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio RPMI1640 que contenía FCS al 10 % y L-alanil-L-glutamina al 1 % (Biochrom, K0302) a 37 °C, CO_2 al 5 % en incubadora celular hasta su uso posterior (no más de 24 h). Para el ensayo de destrucción, se añadió el anticuerpo a las concentraciones indicadas (intervalo de 0,01 pM - 10 nM por triplicado). Se añadieron PBMC a células diana a una proporción E:T final de 10:1. Se evaluó la destrucción de células tumorales después de 24 h y 48 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 % por cuantificación de LDH liberada en sobrenadantes celulares por células apoptóticas/necróticas (kit de detección de LDH, Roche Applied Science, n.º 11 644 793 001). Se logró la lisis máxima de las células diana (= 100 %) por incubación de células diana con Triton X-100 al 1 %. Lisis mínima (= 0 %) se refiere a células diana coincubadas con células efectoras sin construcción biespecífica.

Los resultados muestran que TCB 36F2 no induce la destrucción por linfocitos T de las células primarias (figuras 26A-D), mientras que se puede observar una cierta destrucción para TCB 16D5 en células HRCEpiC y HRPEpiC después de 48 h de incubación (figuras 26B y D). Como se describe anteriormente, se observó una gran diferencia en la

destrucción por linfocitos T de células HT-29 entre TCB 16D5 y TCB 36F2 (Fig. 26E, F).

Ejemplo 36

Preparación de TCB DP47 GS

(2+1 Crossfab-IgG P329G LALA invertido = "TCB no dirigida")

La "TCB no dirigida" se usó como control en los experimentos anteriores. El anticuerpo biespecífico capta a CD3e pero no se une a ningún otro antígeno y, por lo tanto, no puede reticular los linfocitos T con ninguna célula diana (y posteriormente no puede inducir ninguna destrucción). Por lo tanto, se usó como control negativo en los ensayos para supervisar cualquier activación inespecífica de linfocitos T. Esta TCB no dirigida se preparó como se describe en el documento WO2014/131712. En resumen, se han subclonado las secuencias de ADN de la región variable de la cadena pesada y ligera sin cambio del marco de lectura con la cadena pesada constante o bien la cadena ligera constante preinsertada en el respectivo vector de expresión de mamífero receptor. La expresión del anticuerpo estaba dirigida por un promotor MPSV y lleva una secuencia señal poliA sintética en el extremo 3' de la CDS. Además, cada vector contiene una secuencia OriP de EBV.

Se produjo la molécula cotransfectando células HEK293-EBNA con los vectores de expresión de mamífero usando polietilenimina. Se transfectaron las células con los correspondientes vectores de expresión en una proporción 1:2:1:1 ("vector de cadena pesada Fc(ojal): "vector de cadena ligera": "vector de cadena ligera Crossfab": "vector de cadena pesada Fc(botón)-FabCrossfab").

Para la transfección, se cultivaron células HEK293 EBNA en suspensión sin suero en medio de cultivo CD CHO. Para la producción en un matraz de agitación de 500 ml, se sembraron 400 millones de células HEK293 EBNA 24 horas antes de la transfección. Para la transfección, las células se centrifugaron durante 5 min mediante 210 x g, el sobrenadante se reemplaza por 20 ml de medio CD CHO precalentado. Los vectores de expresión se mezclaron en 20 ml de medio CD CHO hasta una cantidad final de 200 g de ADN. Después de la adición de 540 µl, la solución de PEI se mezcló con una agitadora vorticial durante 15 s y posteriormente se incubó durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se mezclaron con la solución de ADN/PEI, se transfirieron a un matraz de agitación de 500 ml y se incubaron durante 3 horas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera de CO_2 al 5 %. Después del tiempo de incubación, se añadieron 160 ml de medio F17 y las células se cultivaron durante 24 horas. Un día después de la transfección, se añadió ácido valpórico 1 mM y medio Feed 1 al 7 %. Después de un cultivo de 7 días, se recogió el sobrenadante para la purificación mediante centrifugación durante 15 min a 210 x g, la solución se filtró en condiciones estériles (filtro de 0,22 µm) y se añadió acida de sodio hasta una concentración final de 0,01 % (p/v) y se mantuvo a 4 °C.

La proteína secretada se purificó de los sobrenadantes del cultivo celular mediante cromatografía de afinidad usando proteína A. El sobrenadante se cargó en una columna HiTrap Protein A HP (VC = 5 ml, GE Healthcare) equilibrada con 40 ml de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5. Se retiró la proteína no unida lavando con al menos 10 volúmenes de columna de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5.

La proteína diana se eluyó usando un gradiente en 20 volúmenes de columna desde citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 7,5 hasta citrato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 0,5 M, pH 2,5. Se neutralizó la solución de proteína añadiendo 1/10 de fosfato de sodio 0,5 M, pH 8. Se concentró la proteína diana y se filtró antes de su carga en una columna HiLoad Superdex 200 (GE Healthcare) equilibrada con histidina 20 mM, solución de cloruro de sodio 140 mM a pH 6,0.

Se determinó la concentración de proteína de las muestras de proteínas purificadas midiendo la densidad óptica (DO) a 280 nm, usando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos.

Se analizaron la pureza y el peso molecular de las moléculas por análisis CE-SDS en presencia y ausencia de un agente reductor. Se usó el sistema Caliper LabChip GXII (Caliper lifescience) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se usan 2 µg de muestra para los análisis.

Se analizó el contenido en agregado de las muestras de anticuerpo usando una columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh) en K_2HPO_4 25 mM, NaCl 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, NaN_3 al 0,02 % (p/v), tampón de migración a pH 6,7 a 25 °C.

Tabla 32: Resumen de producción y purificación de TCB DP47 GS

Construcción	Valor [mg/l]	Rendimiento [mg/l]	Agregado después de 1.ª etapa de purificación [%]	HMW [%]	LMW [%]	Monómero [%]
TCB DP47 GS	103,7	8,04	8	2,3	6,9	91,8

Tabla 33: Análisis CE-SDS de TCB DP47 GS

	Pico	kDa	Cadena correspondiente
TCB DP47 GS no reducida (A)	1	165,22	Molécula con 2 cadenas ligeras faltantes
	2	181,35	Molécula con 1 cadena ligera faltante
	3	190,58	Molécula correcta sin N-glucosilación
	4	198,98	Molécula correcta
TCB DP47 GS reducida (B)	1	27,86	DP47 GS cadena ligera
	2	35,74	huCH2527 cadena ligera
	3	63,57	Fc(ojal)
	4	93,02	Fc(botón)

Ejemplo 37

Unión de TCB 16D5 y TCB 9D11 y sus correspondientes variantes de desamidación de CD3 N100A y S100aA a células Jurkat que expresan CD3

La unión de TCB 16D5 y las variantes de desamidación de CD3 correspondientes TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA y de TCB 9D11 y las variantes de desamidación TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA a CD3 humano se evaluaron en una línea de linfocitos T inmortalizados que expresan CD3 (Jurkat). En resumen, las células se recogieron, se contaron, se comprobó su viabilidad y se resuspendieron a 2 x 10^6 células/ml en tampón FACS (100 µl de PBS, BSA al 0,1 %). Se incubaron 100 µl de suspensión celular (que contenía 0,2 x 10^6 células) en placas de 96 pocillos de fondo redondo durante 30 min a 4 °C con diferentes concentraciones de los anticuerpos biespecíficos (686 pM - 500 nM). Después de dos etapas de lavado con PBS frío con BSA al 0,1 %, las muestras se volvieron a incubar durante otros 30 min a 4 °C con un anticuerpo secundario caprino AffiniPure de fragmento F(ab')2 específico del fragmento Fcγ anti-IgG humana conjugado con PE (Jackson Immuno Research Lab PE n.º 109-116-170). Después de lavar las muestras dos veces con PBS frío con BSA al 0,1 %, se analizaron inmediatamente mediante FACS usando un FACS Canto II (programa informático FACS Diva). Se obtuvieron curvas de unión usando GraphPadPrism6 (Fig. 28A-B).

Los resultados muestran una unión a CD3 reducida de las variantes de desamidación N100A y S100aA en comparación con los anticuerpos originales TCB 16D5 (Fig. 28A) y TCB 9D11 (Fig. 28B).

Ejemplo 38

Destrucción por linfocitos T de células SKov-3 y HT-29 inducida por TCB 16D5 y TCB 9D11 y sus variantes de desamidación de CD3 N100A y S100aA

La destrucción por linfocitos T mediada por TCB 16D5 y las variantes de desamidación de CD3 correspondientes TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA y de TCB 9D11 y las variantes de desamidación TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA se evaluó en células SKov-3 (expresión media de FolR1) y HT-29 (expresión baja de FolR1). Se usaron PBMC humanos como células efectoras y se detectó la destrucción tras 24 h de incubación con los anticuerpos biespecíficos. En resumen, se recogieron células diana con tripsina/EDTA, se lavaron y se sembraron a una densidad de 25.000 células/pocillo usando placas de 96 pocillos de fondo plano. Se dejó que las células se adhirieran durante la noche. Los leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC) se prepararon mediante centrifugación por densidad en Histopaque a partir de preparaciones enriquecidas de linfocitos (capas leucoplaquetarias) obtenidas de donantes humanos sanos. Se diluyó la sangre recién obtenida con PBS estéril y se colocó en una capa sobre un gradiente de Histopaque (Sigma, n.º H8889). Después de la centrifugación (450 x g, 30 minutos, temperatura ambiente), se desechó el plasma por encima de la interfase que contenía los PBMC y se transfirieron los PBMC a un nuevo tubo Falcon llenado posteriormente con 50 ml de PBS. Se centrifugó la mezcla (400 x g, 10 minutos, temperatura ambiente), se desechó el sobrenadante y se lavó el sedimento de PBMC dos veces con PBS estéril (etapas de centrifugación 350 x g, 10 minutos). La población de PBMC resultante se contó automáticamente (ViCell) y se almacenó en un medio RPMI1640 que contenía FCS al 10 % y L-alanil-L-glutamina al 1 % (Biochrom, K0302) a 37 °C, CO_2 al 5 % en incubadora celular hasta su uso posterior (no más de 24 h). Para el ensayo de destrucción, se

añadió el anticuerpo a las concentraciones indicadas (intervalo de 0,01 pM - 10 nM por triplicado). Se añadieron PBMC a células diana a una proporción E:T final de 10:1. Se evaluó la destrucción de células tumorales después de 24 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 % por cuantificación de LDH liberada en sobrenadantes celulares por células apoptóticas/necróticas (kit de detección de LDH, Roche Applied Science, n.º 11 644 793 001). Se logró la lisis máxima de las células diana (= 100 %) por incubación de células diana con Triton X-100 al 1 %. Lisis mínima (= 0 %) se refiere a células diana coincubadas con células efectoras sin construcción biespecífica.

Los resultados muestran que, en las células SKov-3, la destrucción inducida por las variantes de desamidación de CD3 TCB 16D5 N100A y TCB 16D5 S100aA es comparable a la inducida por TCB 16D5 (Fig. 29A). Lo mismo sucede para TCB 9D11 y sus variantes TCB 9D11 N100A y TCB 9D11 S100aA (Fig. 29B). En las células HT-29 de baja expresión de FolR1, la variante S100aA muestra una eficacia de destrucción reducida, como es el caso para TCB 16D5 (Fig. 30A), así como para TCB 9D11 (Fig. 30B). Los valores de CE50 relacionados con los ensayos de destrucción, calculados usando GraphPadPrism6 se dan en la tabla 35.

Tabla 35: Valores de CE50 (pM) para destrucción mediada por linfocitos T de células SKov-3 y HT-29 que expresan FolR1 inducida por TCB 16D5 y TCB 9D11 y sus variantes de desamidación N100A y A100aA.

	CE50 [pM]	
Anticuerpo	**SKov-3**	**HT-29**
TCB 16D5	1,283	56,67
TCB 16D5 N100A	1,886	91,95
TCB 16D5 S100aA	1,939	165,6
TCB 9D11	1,283	2,827
TCB 9D11 N100A	1,886	37,72
TCB 9D11 S100aA	1,939	n.d.*

* *no determinado*

Ejemplo 39

Generación de construcciones biespecíficas de linfocitos T contra mucina-1 que contienen una cadena ligera común

Síntesis génica

Los segmentos de genes deseados se sintetizaron en Geneart AG (Regensburg, Alemania) a partir de oligonucleótidos sintéticos y productos de PCR mediante síntesis génica automatizada.

Producción y purificación de antígeno MUC1

Para la generación de anticuerpos de cadena ligera común (CLC) contra el dominio "proteína de esperma de erizo de mar, enterocinasa y agrina" (SEA) de la mucina-1 (MUC1) humana, se sintetizó un fragmento de ADN que codifica el dominio SEA (Uniprot P15941, aminoácidos 1041-1151). Para evitar la autoproteólisis del SEA entre las posiciones G1097 y S1098, un proceso descrito anteriormente por Ligtenber *et al*. (1992). Cell-associated episialin is a complex containing two proteins derived from a common precursor. J Biol Chem 267, 6171-7. Parry *et al*., Identification of MUC1 Proteolytic Cleavage Sites in Vivo. Biochem Biophys Res Commun 283, 715-20, se insertaron cuatro residuos de glicina adicionales entre G1097 y S1098. Esta inserción da como resultado el alivio de la tensión conformacional y mantiene intacta la proteína. El fragmento de ADN se insertó en pETXX, un vector de expresión bacteriana inducible. El plásmido resultante expresa el dominio SEA con una marca de avidina C terminal y una marca His6 (SEQ ID NO: 47). Mientras que la marca de avidina se usó para la biotinilación *in vivo* mediada por BirA, la marca His6 (SEQ ID NO: 47) se usó para la purificación.

Se inoculó un cultivo de 500 ml con la cepa bacteriana BL21 D3, se transformó con el plásmido correspondiente y un plásmido que expresa BirA, y se indujo con IPTG 1 mM a una DO_{600} de 0,8. A continuación, los cultivos se incubaron a 25 °C durante la noche y se recogieron por centrifugación. El sedimento bacteriano se resuspendió con 25 ml de reactivo de extracción de proteínas BugBuster® (Millipore) y se incubó durante 20 min a temperatura ambiente como se describe en el protocolo. Después de centrifugar durante 20 min a 16000 x g, el sobrenadante se filtró y se cargó en una columna IMAC (His gravitrap, GE Healthcare). La columna se lavó con 40 ml de tampón de lavado (NaCl 500 mM, imidazol 20 mM, NaH_2PO_4 20 mM, pH 7,4). Después de la elución de la columna (NaCl 500 mM, imidazol 500 mM, NaH_2PO_4 20 mM pH 7,4) el eluido se volvió a tamponar usando columnas PD10 (GE Healthcare).

Selección de proteínas de unión al dominio SEA anti-MUC1 humana de las colecciones Fab CLC

Las selecciones contra el dominio SEA de MUC1 humana se llevaron a cabo usando MUC1 biotinilada derivada de *E. coli* e *in vivo*. Los antígenos se biotinilaron enzimáticamente mediante la coexpresión de la biotina ligasa BirA por medio de una marca de avidina C terminal. Se realizaron rondas de selección (panning) en solución de acuerdo con el siguiente patrón: 1. unión de las partículas de fagómidos de las colecciones CLC a proteína de antígeno biotinilado 100 nM durante 0,5 h en un volumen total de 1 ml; 2. captura del antígeno biotinilado y del fago específicamente unido mediante la adición de 5,4 x 10^7 microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina durante 10 min; 3. lavado de las microesferas usando 5 x 1 ml de PBS/Tween20 y 5 x 1 ml de PBS; 4. elución de partículas de fagos mediante la adición de 1 ml de trietilamina (TEA) 100 mM durante 10 min y neutralización mediante la adición de 500 µl de Tris/HCl 1 M, pH 7,4; 5. reinfección de células de *E. coli* TG1 en fase logarítmica con las partículas de fagos en el sobrenadante, infección con el fago auxiliar VCSM13 y posterior precipitación con PEG/NaCl de partículas de fagómidos para su uso en rondas de selección posteriores. Las selecciones se llevaron a cabo en 3 rondas usando concentraciones de antígeno constantes o decrecientes (de 10^{-7} M a 2 × 10^{-9} M). En la ronda 2, la captura de los complejos antígeno-fago se realizó usando placas de neutravidina en lugar de microsesferas de estreptavidina. Las proteínas de unión específicas se identificaron mediante ELISA como sigue: Se recubrieron 100 µl de antígeno biotinilado 50 nM por pocillo en placas de neutravidina. Se añadieron sobrenadantes bacterianos que contenían Fab y se detectaron los Fab de unión por medio de sus marcas Flag usando un anticuerpo secundario anti-Flag/HRP. Los dominios VH de los clones que presentaban señales significativas por encima del fondo se incluyeron en la preselección para la secuenciación (58D6 VH, 106D2 VH, 110A5 VH) y análisis adicionales. Todos los clones derivan de la secuencia de la línea germinal IGHV3-23 (Fig. 31). Cabe destacar que el clon 58D6 y el clon 110A5 se originan en una colección que se aleatorizó solo en CDR3, mientras que el clon 106D2 se identificó en una colección aleatorizada en las 3 CDR. Las posiciones en CDR1 y 2 que se desvían de la secuencia de la línea germinal se imprimen en cursiva. Todas las variantes de VH se expresaron en combinación con la misma cadena ligera común (VL de cadena ligera común).

Purificación de Fab

Los Fab de cultivos bacterianos (secuencia de proteínas de dominios de cadenas pesadas variables para 58D6 VH, 106D2 VH, 110A5 VH, todos los clones expresaron el mismo dominio variable de CLC enumerado como SEQ ID NO: 31) se purificaron para el análisis exacto de los parámetros cinéticos. Para cada clon se inoculó un cultivo de 500 ml con bacterias que albergaban el fagómido correspondiente y se indujo con IPTG 1 mM a una DO_{600} de 0,9. A continuación, los cultivos se incubaron a 25 °C durante la noche y se recogieron por centrifugación. Después de la incubación del sedimento resuspendido durante 20 min en 25 ml de tampón PPB (Tris-HCl 30 mM, pH 8, EDTA 1 mM, sacarosa al 20 %), las bacterias se centrifugaron de nuevo y se recogió el sobrenadante. Esta etapa de incubación se repitió una vez con 25 ml de una solución de $MgSO_4$ 5 mM. Los sobrenadantes de ambas etapas de incubación se combinaron, filtraron y cargaron en una columna IMAC (His gravitrap, GE Healthcare). Posteriormente, la columna se lavó con 40 ml de tampón de lavado (NaCl 500 mM, imidazol 20 mM, NaH_2PO_4 20 mM, pH 7,4). Después de la elución (NaCl 500 mM, imidazol 500 mM, NaH_2PO_4 20 mM, pH 7,4), el eluido se volvió a tamponar usando columnas PD10 (GE Healthcare). Los parámetros cinéticos de los Fab purificados se estudiaron a continuación por análisis SPR (Proteon XPR36, Biorad) en una fila de dilución que variaba de 100 nM a 6,25 nM.

Determinación de afinidad por SPR usando el biosensor ProteOn XPR36 de BioRad

Se midió la afinidad (K_D) de los clones de Fab seleccionados mediante resonancia de plasmón superficial usando un instrumento ProteOn XPR36 (Biorad) a 25 °C con antígeno MUC1 biotinilado inmovilizado en chips NLC mediante captura con neutravidina. Inmovilización de antígenos recombinantes (ligando): se diluyeron los antígenos con PBST (fosfato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, pH 7,4, Tween 20 al 0,005 %) a 10 µg/ml; a continuación, se inyectaron a 30 µl/minuto a tiempos de contacto variables para lograr niveles de inmovilización de 200 unidades de respuesta (UR) en orientación vertical. Inyección de analitos: para las mediciones de cinética con dosis única, se cambió la dirección de inyección a la orientación horizontal, se inyectaron simultáneamente series de dilución 1:2 de Fab purificado (intervalos de concentración variables entre 100 y 6,25 nM) a 50 µl/min a lo largo de canales 1-5 separados, con tiempos de asociación de 250 o 300 s y tiempos de disociación de 300 s. Se inyectó el tampón (PBST) a lo largo del sexto canal para proporcionar un blanco "en línea" como referencia. Se calcularon las constantes de velocidad de asociación (k_{as}) y las constantes de velocidad de disociación (k_{dis}) usando un modelo de Langmuir sencillo de unión uno a uno en el programa informático ProteOn Manager v3.1 ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. Se calculó la constante de disociación en equilibrio (K_D) como la proporción k_{dis}/k_{as}. La regeneración se realizó en orientación horizontal usando glicina 10 mM, pH 1,5 a un caudal de 100 µl/min durante un tiempo de contacto de 30 s. Tres clones se unieron específicamente a MUC1 (Fig. 32A), pero no al blanco "en línea", lo que demuestra la especificidad de estas proteínas de unión. Los datos cinéticos y termodinámicos de todas las mediciones se resumen en la figura 32B.

Clonación, expresión y caracterización de los basados en MUC1

Todos los Fab que demostraron unión específica a MUC1 por SPR se convirtieron al formato biespecífico de linfocitos T (TCB). Para ello, los fragmentos de ADN amplificados por PCR de los dominios VH de la cadena pesada y ligera se insertaron en la región estructural en ambas cadenas de Ig que contienen Fc necesarias para la generación de un TCB (Fig. 33). La expresión de la cadena de anticuerpo está dirigida por un promotor MPSV y la transcripción se termina por una secuencia señal sintética de poliA localizada en dirección 3' de la CDS. Además del casete de

expresión, cada vector contiene una secuencia oriP de EBV para la replicación autónoma en líneas celulares que expresan EBV-EBNA. Las construcciones de ADN resultantes se coexpresaron en combinación con el CLC (clon 58D6; clon 110A5) y se purificaron del sobrenadante de cultivo celular derivado de mamíferos (clon 58D6; clon 110A5). Un resumen de los datos analíticos para dos clones de anticuerpos biespecíficos se muestra en la figura 34A y B.

Análisis de unión de las TCB específicas para MUC1 usando el biosensor ProteOn XPR36 de BioRad

La unión de las TCB específicas para MUC1 producidas se midió por resonancia de plasmón superficial usando un instrumento ProteOn XPR36 (Biorad) a 25 °C. El antígeno MUC1 biotinilado y un antígeno biotinilado no relacionado se inmovilizaron en chips NLC mediante captura con neutravidina. La inmovilización de los antígenos se realizó como se describe anteriormente. Para las mediciones de cinética con dosis única, se cambió la dirección de inyección a la orientación horizontal, se inyectaron simultáneamente series de dilución 1:2 de las construcciones purificadas (intervalos de concentración variables entre 30 y 1,88 nM o entre 100 y 6,25 nM) a 50 µl/min a lo largo de canales 1-5 separados, con tiempos de asociación de 120 s y tiempos de disociación de hasta 600 s. Se inyectó el tampón (PBST) a lo largo del sexto canal para proporcionar un blanco "en línea" como referencia.

La regeneración se realizó en orientación horizontal usando glicina 10 mM, pH 1,5 a un caudal de 100 µl/min durante un tiempo de contacto de 30 s. Tres clones se unieron específicamente a MUC1 (Fig. 35), pero no al blanco "en línea", lo que demuestra la especificidad de estas proteínas de unión. Debido al efecto de avidez del formato bivalente de TCB, se observó una unión muy fuerte a MUC1. Por el contrario, no se detectó unión al antígeno no relacionado, lo que indica la unión específica de las construcciones de TCB.

Ejemplo 40

Generación de anticuerpos anti-BCMA

1.1: Producción de antígenos y reactivos instrumentales

1.1.1: Dominio extracelular de BCMA humano recombinante, soluble

Los dominios extracelulares de BCMA humano, de macaco y murino que se usaron como antígenos para las selecciones de presentación en fagos se expresaron de forma transitoria como fusión Fc monomérica N terminal en células HEK EBNA y se biotinilaron específicamente en el sitio *in vivo* por medio de la coexpresión de la biotina ligasa BirA en la secuencia de reconocimiento de la marca de avidina localizada en el extremo C de la porción Fc que lleva la cadena del receptor (cadena de botón Fc). Los dominios extracelulares de BCMA humano, de macaco y murino comprendían metionina-4 a asparagina-53, metionina-4 a asparagina-52 y alanina-2 a treonina-49, respectivamente. Estos se fusionaron en el extremo N a la bisagra de una IgG1 humana que permitía la heterodimerización con una porción Fc de IgG1 humana no fusionada (cadena de ojal) mediante tecnología de botón en ojal.

Para recuperar el dominio extracelular de BCMA se usaron los siguientes cebadores: AAGCTTGGATCCATGTTGCAGATGGCTGGGCAGTGCTCC-3 (SEQ ID NO: 48) que incorpora un sitio BamH1 (negrita, subrayado) y cebador inverso 5-GAATTCGCGGCCGCTCATCCTTTCACTGAATTGGTCACACTTGCATTAC-3 (SEQ ID NO: 49)

cebador 5-ACGTTAGATCTCCACTCAGTCCTGCATCTTGTTCCAGTTAAC-3 (SEQ ID NO: 50) y cebador inverso 5-AACGTTGCGGCCGCTAGTTTCACAAACCCCAGG-3 (SEQ ID NO: 51)

GAATTCAAGCTTGCCACCATGTTGCAGATGGCTGGGCAGTGCTCC-3 (SEQ ID NO: 52) que incluye un sitio de restricción HindIII (negrita, subrayado) y secuencia consenso de Kozak y cebador inverso 5-

GAATTCTCTAGATTACCTAGCAGAAATTGATTTCTCTATCTCCGTAGC-3 (SEQ ID NO: 53)

La síntesis génica también se puede usar para obtener el dominio extracelular de BCMA.

1.2: Células que expresan BCMA como herramientas

1.2.1: Línea celular de mieloma humano que expresa BCMA en su superficie

La expresión de BCMA se evaluó en cuatro líneas celulares de mieloma humano (NCI-H929, RPMI-8226, U266B1 y L-363) por citometría de flujo. Las células NCI-H929 ((H929) ATCC® CRL-9068™) se cultivaron en un medio que contenía un 80-90 % de RPMI 1640 con un 10-20 % de FCS inactivado por calor y podían contener L-glutamina 2 mM, piruvato de sodio 1 mM y mercaptoetanol 50 µM. Las células RPMI-8226 ((RPMI) ATCC® CCL-155™) se cultivaron en un medio que contenía un 90 % de RPMI 1640 y un 10 % de FCS inactivado por calor. Las células U266B1 ((U266) ATCC® TIB-196™) se cultivaron en un medio RPMI-1640 modificado para que contuviera L-glutamina 2 mM, HEPES

10 mM, piruvato de sodio 1 mM, 4500 mg/l de glucosa y 1500 mg/l de bicarbonato de sodio y un 15 % de FCS inactivado por calor. La línea celular L-363 (Leibniz Institute DSMZ - Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares; DSMZ n.º ACC 49) se cultivó en un medio que contenía un 85 % de RPMI 1640 y un 15 % de FCS inactivado por calor. En resumen, las células se recogieron, se lavaron, se contaron para determinar su viabilidad, se resuspendieron a 50.000 células/pocillo de una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se incubaron con anticuerpo anti-BCMA humano (Abeam, n.º ab54834, IgG1 de ratón) a 10 µg/ml durante 30 min a 4 °C (para evitar la internalización). Se usó una IgG1 de ratón como control de isotipo (BD Biosciences, n.º 554121). A continuación, las células se centrifugaron (5 min a 350 x g), se lavaron dos veces y se incubaron con el anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con FITC durante 30 min a 4 ºC. Al final del tiempo de incubación, las células se centrifugaron (5 min a 350 x g), se lavaron dos veces con tampón FACS, se resuspendieron en 100 µl de tampón FACS y se analizaron en un dispositivo Canto II que ejecuta el programa informático FACS Diva. La cuantificación relativa del número de receptores de BCMA en la membrana superficial de las líneas celulares de mieloma H929, U266B1, RPMI-8226 y L-363 se evaluó mediante análisis QIFIKIT (Dako, n.º K0078, siguiendo las instrucciones del fabricante). Las células H929 expresaron BCMA humano con la densidad más alta, hasta 3,8 a 27 veces mayor que otras líneas celulares de mieloma. H929 se considera una línea celular de mieloma con alta expresión de BCMA en comparación con U266 que son células de mieloma con expresión media/baja de BCMA y RPMI-8226 y L363 que son células de mieloma con baja expresión de BCMA. La tabla 36 resume el número relativo de receptores de BCMA en la superficie celular de líneas celulares de mieloma múltiple humano.

Tabla 36: Cuantificación del número de receptores de BCMA en la superficie celular de líneas celulares de mieloma humano NCI-H929, U266B1, RPMI-8226 y L-363

Líneas celulares de mieloma	Sitios de unión relativos por célula
H929	50000
U266	13000
RPMI-8226	2000
L363	1800

1.3: Obtención de proteínas de unión a BCMA de una colección recombinante *in vitro*

1.3.1: Construcción de colecciones Fab de cadenas ligeras comunes

Las colecciones de anticuerpos en el formato Fab se construyen sobre la base de la cadena ligera del anticuerpo humanizado anti-CD3 que se generó. La diversidad solo se introdujo en la cadena pesada. Se usaron seis regiones estructurales de cadena pesada diferentes: VH1-46, VH1-69, VH3-15, VH3-23, VH4-59 y VH5-1. Las CDR 1, 2 y 3 se aleatorizaron y cada colección de cadenas pesadas se combinó con la cadena ligera no aleatorizada. Las colecciones se generaron como se describe por Nissim *et al*., EMBO J. 1994 Feb 1; 13(3):692-8, y Silacci *et al*., Proteomics. 2005 Jun; 5(9):2340-50.

1.3.2: Selección de clones Fab anti-BCMA

Los Fab anti-BCMA se establecieron mediante presentación en fagos a partir de colecciones Fab sintéticas que consisten en un VL constante y seis secuencias de VH humanas diferentes

Tabla 37: Clones anti-BCMA y sus respectivos emparejamientos VL/VH

Clon Fab	Dominio VL	Dominio VH
pSCHLI372	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL (SEQ ID NO: 31)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFTFSNSGMIWVRQAPGK GLEWVGHIRSKTDGGTTDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMN SLKTEDTAVYYCTTGGSGSFD YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 54)
pSCHLI373	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL (SEQ ID NO: 31)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFSFSNSWMNWVRQAPG KGLEWVGTIRQKTYGGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQM NSLKTEDTAVYYCTTGGLFGY WDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 55)

Se realizaron rondas de selección (biopanning) en solución de acuerdo con el siguiente patrón: 1) eliminación previa de ~10^{12} partículas de fagómidos por grupo de colecciones en inmunotubos recubiertos con 10 µg/ml de una IgG humana no relacionada para agotar las colecciones de anticuerpos que reconocen la porción Fc de los antígenos; 2) incubación de las partículas de fagómidos que no se unen a Fc con BCMA biotinilado 100 nM durante 0,5 h en presencia de una construcción de botón en ojal Fc no biotinilada no relacionada 100 nM para una disminución adicional de las proteínas de unión a Fc en un volumen total de 2 ml; 3) captura de BCMA biotinilado y del fago específicamente unido dividiendo y transfiriendo la reacción de selección a 16 pocillos en una placa de microvaloración prerrecubierta con neutravidina o estreptavidina durante 20 min en un agitador; 4) lavado de los pocillos respectivos 10-30 veces con PBS/Tween20 y 10-30 veces con PBS usando un lavador de placas; 5) etapa de lavado competitivo opcional mediante la adición de APRIL murino 230 nM para desplazar los clones Fab que reconocen el sitio de unión del ligando natural, seleccionando así los anticuerpos de fagos no competidores de APRIL; 6) elución de partículas de fagos por adición de 125 µl de TEA (trietilamina) 100 mM por pocillo durante 5-10 min y neutralización por adición de un volumen igual de Tris/HCl 1 M pH 7,4; 7) reinfección de células de *E. coli* TG1 en fase logarítmica con las partículas de fagos eluidas, infección con el fago auxiliar VCSM13, incubación en un agitador a 30 °C durante la noche y posterior precipitación con PEG/NaCl de partículas de fagómidos para su uso en la siguiente ronda de selección.

Las selecciones se llevaron a cabo en 3 a 5 rondas usando concentraciones de antígenos constantes de 100 nM. Además de las rondas de selección durante las que solo se usó BCMA humano como antígeno, se llevaron a cabo rondas de selección adicionales durante las que también se usaron BCMA de macaco o murino de forma alterna con BCMA humano para seleccionar anticuerpos de reactividad cruzada. Además, como alternativa a la captura basada en placas con estreptavidina, la captura de complejos antígeno:fago se realizó por adición de 5,4 x 10^7 microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina a la reacción de selección, seguida de etapas de lavado usando los respectivos imanes en las condiciones descritas anteriormente.

Las proteínas de unión específicas se identificaron mediante cribado por resonancia de plasmón superficial de sobrenadantes de cultivo bacteriano que contienen Fab usando el biosensor ProteOn XPR36 de BioRad. En resumen, después de la infección de células de *E. coli* TG1 en fase logarítmica con las partículas de fagos eluidas, se sembraron unidades formadoras de colonias (ufc) individuales y se recogieron para la inoculación de 1 ml de cultivos de expresión en placas de 96 pocillos profundos. Se capturaron los Fab de los sobrenadantes en un chip ProteOn GLM que se derivatizó con 8.000-10.000 UR de un anticuerpo policlonal caprino específico de fragmento F(ab')2 anti-IgG humano (Jackson ImmunoResearch, n.º 109-005-006) en orientación vertical. Posteriormente, se inyectaron BCMA humano, de macaco y murino, así como una construcción Fc de botón en ojal no relacionada como analitos en orientación horizontal. Los clones que presentaron respuestas de unión significativas a BCMA y no se unieron a la porción Fc de los antígenos se expresaron bacterianamente en un volumen de cultivo de 0,5 litros, se purificaron por afinidad y se caracterizaron cinéticamente mediante análisis SPR usando un protocolo de cinética con dosis única en un biosensor ProteOn XPR36 de BioRad.

Ejemplo 41

Ensayos de unión a BCMA: resonancia de plasmón superficial

Evaluación de la unión de anticuerpos anti-BCMA a BCMA recombinante por resonancia de plasmón superficial (SPR) como sigue. Todos los experimentos de SPR se realizaron en un Biacore T200 a 25 °C con HBS-EP como tampón de migración (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %, Biacore, Friburgo / Alemania). Se determinó la avidez de la interacción entre los anticuerpos anti-BCMA y el Fc(kih) de BCMA recombinante (humano, de macaco y murino) (tablas 38-40). Los Fc(kih) de BCMA humano, de macaco y murino recombinantes biotinilados se acoplaron directamente en un chip SA siguiendo las instrucciones (Biacore, Friburgo / Alemania). El nivel de inmovilización varió de aproximadamente 80 a 120 UR. Los anticuerpos anti-BCMA se pasaron a un intervalo de concentración de 4 veces (1,95 a 500 nM) con un caudal de 30 µl/minuto a través de las cubetas de lectura durante 120 segundos. Se supervisó la disociación durante 180 segundos. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia. Aquí, los anticuerpos anti-BCMA se hicieron pasar sobre una superficie vacía previamente activada y desactivada como se describe en el kit de acoplamiento de amina estándar. Las constantes cinéticas aparentes se derivaron usando el programa informático de evaluación de Biacore T200 (v1.0, Biacore AB, Uppsala / Suecia) para ajustar las ecuaciones de velocidad para la unión de Langmuir 1:1 por integración numérica, a pesar de la bivalencia de la interacción para propósitos de comparación.

Tabla 38. Valores de avidez solo para propósitos de comparación (Experimento 1)

Analito	Ligando	kas [1/Ms]	kdis [1/s]	K_D [nM]
IgG pSCHLI333 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	4,55E+06	1,13E-02	2,5
IgG pSCHLI333 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	9,39E+06	1,24E-02	1,3
IgG pSCHLI333 anti-BCMA	Fc(kih) de muBCMA	8,26E+06	1,62E-01	19,6

Tabla 39. Valores de avidez solo para propósitos de comparación (Experimento 2)

Analito	Ligando	kas [1/Ms]	kdis [1/s]	KD [nM]
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	3,13E+05	2,66E-03	8,5
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	7,85E+05	3,50E-03	4,5
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de muBCMA	1,30E+05	5,53E-01	42,7
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	1,40E+05	3,23E-03	23,0
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	9,36E+04	9,28-04	9,9

Tabla 40. Valores de avidez solo para propósitos de comparación (Experimento 3)

Analito	Ligando	kas [1/Ms]	kdis [1/s]	KD [nM]
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	8,03E+05	2,84E-03	3,6
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	1,63E+06	4,69E-03	2,9
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de muBCMA	4,69E+05	1,21E-02	25,7
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	9,78E+04	1,18E-03	12,1
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	9,39E+04	7,98E-04	8,5

También se determinó la afinidad de la interacción entre los anticuerpos anti-BCMA o los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA y el Fc(kih) de BCMA humano recombinante. El anticuerpo anti-Fab humano (GE Healthcare) se acopló directamente en un chip CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (Biacore, Friburgo / Alemania). El nivel de inmovilización fue de aproximadamente 6500 UR. El anticuerpo anti-BCMA o el anticuerpo TCB CLC anti-BCMA se capturó durante 90 segundos a 25 nM. El Fc(kih) de BCMA humano recombinante se pasó a un intervalo de concentración de 4 veces (1,95 a 500 nM) con un caudal de 30 µl/minuto a través de las cubetas de lectura durante 120 o 180 segundos. Se supervisó la disociación durante 120 o 400 segundos. Se corrigieron las diferencias en el índice de refracción aparente restando la respuesta obtenida en la cubeta de lectura de referencia. Aquí, el BCMA recombinante se pasó sobre una superficie con anticuerpo anti-Fab humano inmovilizado, pero en el que se había inyectado HBS-EP en lugar de anticuerpo anti-BCMA o anticuerpo TCB CLC anti-BCMA. Las constantes cinéticas se derivaron usando el programa informático de evaluación Biacore T200 (v 1.0, Biacore AB, Uppsala/Suecia), para ajustar las ecuaciones de velocidad para la unión de Langmuir 1:1 por integración numérica (tabla 41).

Tabla 41. Constantes de afinidad determinadas por ecuaciones de tasa de ajuste para la unión de Langmuir 1:1

Ligando	Analito	kas [1/Ms]	kdis [1/s]	KD [nM]
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	4,59E+04	5,23E-03	114
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	2,68E+04	7,52E-03	281
IgG pSCHLI372 anti-BCMA	Fc(kih) de muBCMA	9,92E+04	1,30E-01	1310
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de huBCMA	4,22E+04	5,70E-03	135
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de cyBCMA	2,10E+04	1,12E-02	535
IgG pSCHLI373 anti-BCMA	Fc(kih) de muBCMA	1,27E+05	9,19E-02	724
pSCHLI333 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de huBCMA	9,10E+03	1,49E-03	164
pSCHLI333 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de cyBCMA	1,44E+04	2,63E-03	183
pSCHLI333 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de muBCMA	4,83E+02	3,47E-03	7190
pSCHLI372 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de huBCMA	5,59E+04	3,52E-03	63
pSCHLI372 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de cyBCMA	4,58E+04	7,57E-03	165
pSCHLI372 TCB BCMAxCD3	Fc(kih) de muBCMA	1,42E+04	4,87E-03	344

Ejemplo 42

Generación de anticuerpo IgG bivalente anti-BCMA con la cadena ligera común

Para verificar la hipótesis de que el uso de la cadena ligera común se podría aplicar a cualquier anticuerpo contra BCMA, se generó el anticuerpo bivalente anti-BCMA 83A10-CLC sustituyendo la cadena ligera natural del anticuerpo bivalente anti-BCMA 83A10, descrito previamente en el documento WO/2014/122143, por la cadena ligera común (CD3 LC (CLC)). El anticuerpo anti-BCMA que comprende dos cadenas pesadas de 83A10 y dos cadenas ligeras comunes se produjo usando las técnicas generales para la generación de anticuerpos IgG bivalentes como se describe en la sección Material y procedimientos generales. La afinidad del anticuerpo IgG 83A10-CLC por BCMA humano se midió mediante SPR con procedimientos similares a los descritos en el ejemplo 41. La tabla 42 representa la unión de

Fc(kih) de BCMA humano recombinante al anticuerpo IgG anti-BCMA 83A10-CLC.

Tabla 42. Constantes de afinidad determinadas por ecuaciones de tasa de ajuste para la unión de Langmuir 1:1: unión de Fc(kih) de BCMA recombinante a anticuerpo anti-BCMA 83A10-CLC

Ligando	Analito	kas [1/Ms]	kdis [1/s]	KD [nM]
IgG anti-BCMA 83A10 CLC	Fc(kih) de huBCMA	8,78E+04	2,13E-3	24,3

Ejemplo 43

Prueba de especificidad de anticuerpos IgG anti-BCMA contra huTACI-R y huBAFF-R

Como miembros de la superfamilia TNF-TNF-R, los receptores de TACI y BAFF están relacionados con el receptor de BCMA con una homología en el dominio extracelular de un 22 % y un 18,5 % respectivamente. Por lo tanto, se realizaron experimentos de unión de resonancia de plasmón superficial (SPR) para examinar la especificidad de los anticuerpos IgG anti-BCMA. Todos los experimentos de SPR se realizaron en un Biacore T200 a 25 °C con HBS-EP como tampón de migración (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %). Fc fusionado a huBCMA, huBAFF-R y huTACI-R se inmovilizaron químicamente con un alto nivel de inmovilización (~5000 UR) en diferentes canales de flujo de un chip sensor Biacore CM5 a pH 5,0 usando el kit de acoplamiento de amina estándar (GE Healthcare). Inicialmente, se inyectaron soluciones altamente concentradas (3 µM, disueltas en HBS-EP) de IgG anti-BCMA pSCHLI372, así como de IgG a-huTACI-R o IgG a-huBAFF-R como controles positivos (tiempo de asociación: 80 s; tiempo de disociación: 600 s, caudal: 30 µl/min) para verificar si se produce la unión. Un acontecimiento de unión positiva de la IgG a-huTACI-R a huTACI-R, así como de IgG a-huBAFF-R a huBAFF-R y de anticuerpos IgG anti-BCMA a huBCMA indicaron que todos los receptores aún se reconocían después de la inmovilización. Para la unión de anticuerpos IgG anti-BCMA con constantes de velocidad cinética rápida a huBAFF-R y/o huTACI-R, se realizó un examen cuidadoso del parámetro cinético con bajos niveles de inmovilización (300 UR) en un nuevo chip sensor CM5. Se inyectan diluciones de anticuerpos IgG anti-BCMA a concentraciones de 3000 a 93,75 nM (dilución 1:2 en HBS-EP) (tiempo de asociación: 80 s; tiempo de disociación: 300 s, caudal: 30 µl/min), y las muestras se analizaron por duplicado. La regeneración también se realizó cuando fue aplicable, es decir, sin disociación rápida y completa. La evaluación cinética de la interacción entre los anticuerpos IgG anti-BCMA y huBAFF-R o huTACI-R se realizó mediante el ajuste global de los datos a un modelo de interacción 1:1 que incluye un término para el transporte masivo (evaluación Biacore T200, versión 1.0). También se realizó un análisis en situación de equilibrio. Como se muestra en la figura 37, la curva 1 corresponde a la señal en el canal de referencia, la curva 2 al canal donde se produce la unión (canal de unión) y la curva 2-1 es la señal restada (canal de unión - canal de referencia), lo que significa que esta es la señal debida al acontecimiento de unión. Como se muestra en la figura 37, el ensayo de unión por SPR demostró claramente que la IgG pSCHLI372 no se unía al receptor de TACI humano. Como control positivo para la unión se usó otra IgG anti-BCMA que se unía ligeramente al receptor de TACI pero con una velocidad de activación y desactivación muy rápida (datos no mostrados).

Ejemplo 44

Producción y purificación de anticuerpos que contienen Fc TCB CLC anti-BCMA (2+1)

Para la producción de los anticuerpos biespecíficos, se expresaron anticuerpos biespecíficos por cotransfección transitoria basada en polímeros de los respectivos vectores de expresión de mamífero en células HEK293-EBNA, que se cultivaron en suspensión. Un día antes de la transfección, se sembraron las células HEK293-EBNA a 1,5 millones de células viables/ml en medio Ex-Cell complementado con L-glutamina 6 mM. Por cada ml de volumen de producción final, se centrifugaron 2,0 millones de células viables (5 minutos a 210 x g). Se aspiró el sobrenadante y se resuspendieron las células en 100 µl de medio CD CHO. Se preparó el ADN por cada ml de volumen de producción final mezclando 1 µg de ADN (proporción de producción de anticuerpos biespecíficos: cadena pesada:cadena pesada modificada:cadena ligera:cadena ligera modificada = 1:1:2:1; Proporción de anticuerpos estándar: cadena pesada:cadena ligera = 1:1) en 100 µl de medio CD CHO. Después de la adición de 0,27 µl de solución PEI (1 mg/ml), la mezcla se mezcló con una agitadora vorticial durante 15 segundos y se dejó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después de 10 minutos, se pusieron juntas las células resuspendidas y la mezcla ADN/PEI y a continuación se transfirieron a un recipiente apropiado que se dispuso en un dispositivo de agitación (37 °C, CO_2 al 5 %). Después de un tiempo de incubación de 3 horas, se añadieron 800 µl de medio Ex-Cell, complementado con L-glutamina 6 mM, ácido valproico 1,25 mM y Pepsoy al 12,5 % (50 g/l), por cada ml de volumen de producción final. Después de 24 horas, se añadieron 70 µl de solución Feed por cada ml de volumen de producción final. Después de 7 días o cuando la viabilidad celular fue igual o menor que un 70 %, se separaron las células del sobrenadante por centrifugación y filtración estéril. Los anticuerpos se purificaron por una etapa de afinidad y una cromatografía de exclusión por tamaño como etapa de pulido.

Para la etapa de afinidad, se cargó el sobrenadante en una columna con proteína A (HiTrap Protein A FF, 5 ml, GE Healthcare) equilibrada con 6 VC de fosfato de sodio 20 mM, citrato de sodio 20 mM, pH 7,5. Después de una etapa de lavado con el mismo tampón, se eluyó el anticuerpo de la columna por una etapa de elución con fosfato de sodio

20 mM, cloruro de sodio 100 mM, glicina 100 mM, pH 3,0. Se neutralizaron de inmediato las fracciones con el anticuerpo deseado por adición de fosfato de sodio 0,5 M, pH 8,0 (1:10), se agruparon y se concentraron por centrifugación. Se filtró de forma estéril el concentrado y se procesó adicionalmente por cromatografía de exclusión por tamaño.

Para la etapa de exclusión por tamaño, se inyectó la proteína concentrada en una columna XK16/60 HiLoad Superdex 200 (GE Healthcare), e histidina 20 mM, cloruro de sodio 140 mM, pH 6,0 con o sin Tween20 como tampón de formulación. Las fracciones que contenían los monómeros se agruparon, se concentraron por centrifugación y se filtraron de forma estéril en un vial estéril.

Se realizó la determinación de la concentración de anticuerpo por medición de la absorbancia a 280 nm, usando el valor teórico de la absorbancia de una solución al 0,1 % del anticuerpo. Este valor se basó en la secuencia de aminoácidos y se calculó por el programa informático GPMAW (Lighthouse data). Se determinó la pureza y el contenido de monómero de la preparación de proteína final por CE-SDS (sistema Caliper LabChip GXII (Caliper Life Sciences)) resp. HPLC (columna analítica de exclusión por tamaño TSKgel G3000 SW XL (Tosoh)) en un tampón de fosfato de potasio 25 mM, cloruro de sodio 125 mM, monoclorhidrato de L-arginina 200 mM, acida de sodio al 0,02 % (p/v), pH 6,7. Las figuras 38A-C representan los gráficos CE-SDS (no reducido (paneles superiores) y reducido (paneles inferiores)) de las preparaciones de proteína final después de las etapas de purificación por cromatografía de afinidad por proteína A (PA) y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) de (Fig. 38A) pSCHLI333-TCB CLC, (Fig. 38B) pSCHLI372-TCB CLC, (Fig. 38C) pSCHLI373-TCB CLC. Las etapas de purificación por cromatografía de afinidad PA y SEC aplicados al anticuerpo pSCHLI333-TCB CLC dieron como resultado una pureza del 89,2 % y un 100 % de contenido de monómero (Fig. 38A), una pureza del 88,5 % y un 100 % del contenido de monómero para el anticuerpo pSCHLI372-TCB CLC (Fig. 38B), y una pureza del 91,8 % y un 100 % de contenido de monómero para el anticuerpo pSCHLI372-TCB CLC (Fig. 38C). La tabla 43 resume las propiedades de los anticuerpos pSCHLI333-TCB CLC, pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC después de las etapas de purificación por cromatografía de afinidad PA y SEC. En todos los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA se alcanzó de manera consistente >88 % de pureza y un 100 % de contenido de monómero. Los resultados globales demuestran claramente que se pudieron lograr ventajas en los rasgos característicos de producción/purificación usando una cadena ligera común (CLC) para los anticuerpos TCB y que solo se requirieron dos etapas de purificación (es decir, cromatografía de afinidad PA y SEC) para lograr ya preparaciones de proteínas de alta calidad con propiedades de desarrollabilidad muy buenas.

Tabla 43: Perfil de producción/purificación de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA después de las etapas de purificación por cromatografía de afinidad con proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño

	pSCHLI333-TCB CLC	pSCHLI372-TCB CLC	pSCHLI373-TCB CLC
Pureza (%)	89,2	88,5	91,8
Rendimiento (mg/l)	4,2	4,1	2,73
Valor (mg/l)	26,9	21,2	37,1
Monómero (%)	100	100	100

Ejemplo 44

Unión de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA a líneas celulares de mieloma múltiple positivas para BCMA

Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI333, pSCHLI372, pSCHLI373) se analizaron por citometría de flujo para determinar la unión al BCMA humano en células H929 con alta expresión de BCMA. Se usó MKN45 (línea celular de adenocarcinoma gástrico humano que no expresa BCMA) como control negativo. En resumen, las células cultivadas se recogen, se cuentan y se evalúa la viabilidad celular usando ViCell. A continuación, se ajustan las células viables a 2 x 10^6 células por ml en tampón de tinción FACS que contenía BSA (BD Biosciences). Además, se obtuvo una parte alícuota de 100 µl de esta suspensión celular por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se incubaron con 30 µl de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA o el correspondiente control de TCB durante 30 min a 4 °C. Se valoraron todos los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (y controles de TCB) y se analizaron en un intervalo de concentración final entre 0,12 y 500 nM. A continuación, se centrifugaron las células (5 min, 350 x g), se lavaron con 120 µl/pocillo de tampón de tinción FACS (BD Biosciences), se resuspendieron y se incubaron durante 30 min adicionales a 4 °C con anticuerpo caprino AffiniPure de fragmento F(ab')2 específico del fragmento Fc anti-IgG humana conjugado con PE conjugado con fluorocromo (Jackson Immuno Research Lab; 109-116-170). A continuación, las células se lavaron dos veces con tampón de tinción (BD Biosciences), se fijaron con 100 µl de tampón de fijación BD por pocillo (BD Biosciences, n.º 554655) a 4 °C durante 20 min, se resuspendieron en 120 µl de tampón FACS y se analizaron usando FACS Canto II de BD como se representa en las figuras 39A-B, la intensidad de fluorescencia media de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA se representó en función de las concentraciones de anticuerpos; (Fig. 39A) pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC en células H929; (Fig. 39B) pSCHLI372-TCB CLC y pSCHLI373-TCB CLC en células MKN45. Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI333, pSCHLI372, pSCHLI373) no se unieron a las células MKN45 negativas para BCMA y negativas para CD3 a concentraciones inferiores a 100 nM. Cuando fue aplicable, se calcularon las CE50 usando Prism GraphPad (LaJolla, CA, EE. UU.) y los valores de CE50

que indicaban la concentración de anticuerpo requerida para alcanzar un 50 % de la unión máxima para la unión de anticuerpos TCB anti-BCMA/anti-CD3 a células H929 se resumen en la tabla 44.

Tabla 44: Valores de CE50 para la unión de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA a células H929

Moléculas TCB anti-BCMA/anti-CD3	CE50 (nM)	CE50 (µg/ml)
pSCHLI372-TCB CLC	344,8	65,9
pSCHLI373-TCB CLC	sin valor de CE50	sin valor de CE50

Ejemplo 45

Unión de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA a la línea de linfocitos T Jurkat positivos para CD3 (citometría de flujo)

Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI333, pSCHLI372, pSCHLI373) también se analizaron por citometría de flujo para determinar sus propiedades de unión a CD3 humano expresado en linfocitos T Jurkat de leucemia humana (ATCC TIB-152). Los linfocitos T Jurkat se cultivaron en RPMI complementado con FCS inactivado por calor al 10 %. En resumen, se recogieron células cultivadas, se contaron y se evaluó la viabilidad celular usando ViCell. A continuación, se ajustaron las células viables a 2 x 10^6 células por ml en tampón de tinción FACS (BD Biosciences) que contenía BSA al 0,1 %. Además, se obtuvo una parte alícuota de 100 µl de esta suspensión celular por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo. Se añadieron 30 µl de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA o del control TCB correspondiente a los pocillos que contenían células para obtener concentraciones finales de 0,12 nM a 500 nM. Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA y la IgG de control se usaron con la misma molaridad. Después de la incubación durante 30 min a 4 °C, las células se centrifugaron (5 min, 350 x g), se lavaron dos veces con 150 µl/pocillo de tampón de tinción FACS que contenía BSA (BD Biosciences), a continuación las células se fijaron usando 100 µl de tampón de fijación BD por pocillo (Biosciences, n.º 554655) a 4 °C durante 20 min, se resuspendieron en 120 µl de tampón FACS y se analizaron usando FACS Canto II de BD. Se evaluó la unión de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA a los linfocitos T y se determinó la mediana de la intensidad de fluorescencia activada en linfocitos T Jurkat que expresan CD3 y se trazó en histogramas o diagramas de puntos. Las figuras 40A-B muestran la mediana de la intensidad de fluorescencia para los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI333, pSCHLI372, pSCHLI373) que se unen a los linfocitos T Jurkat (Fig. 40A) o las células MKN45 (Fig. 40B) y se representan en función de la concentración de anticuerpos. No se alcanzaron los valores de CE50 y la unión máxima de los anticuerpos TCB anti-BCMA/anti-CD3 a los linfocitos T Jurkat positivos para CD3. El anticuerpo de control de isotipo no se unió a los linfocitos T Jurkat y los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI333, pSCHLI372, pSCHLI373) no se unieron a las células MKN45 negativas para BCMA y negativas para CD3 a concentraciones inferiores a 100 nM.

Ejemplo 46

Activación de linfocitos T humanos tras la unión de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA a linfocitos T positivos para CD3 y líneas celulares de mieloma múltiple positivas para BCMA

Los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI372, pSCHLI373) se analizaron por citometría de flujo para determinar su capacidad de inducir la activación de linfocitos T mediante la evaluación de la expresión superficial del marcador de activación temprana CD69 o el marcador de activación tardía CD25 en linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ en presencia o ausencia de células de mieloma múltiple humanas que expresan BCMA. En resumen, las células H929 positivas para BCMA se recogieron con tampón de disociación celular, se contaron y se comprobó su viabilidad. Las células se ajustaron a 0,3 x 10^6 células (viables) por ml en medio RPMI-1640 modificado, se pipetearon 100 µl de esta suspensión celular por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo (como se indica). Se añadieron 50 µl de los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (diluidos) a los pocillos que contenían células para obtener una concentración final de 0,012 pM - 100 nM. Las células efectoras de PBMC humanos se aislaron de sangre fresca de un donante sano y se ajustaron a 6 x 10^6 células (viables) por ml en medio RPMI-1640 modificado. Se añadieron 50 µl de esta suspensión celular por pocillo de la placa de ensayo para obtener una proporción E:T final de PBMC respecto a células tumorales de mieloma de 10:1. Para analizar si los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA pudieron activar linfocitos T específicamente en presencia de células diana que expresan BCMA humano, se incluyeron los pocillos que contenían de 3 a 10 nM de las moléculas de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA respectivas, así como PBMC, pero sin células diana. Después de 48 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 %, las células se centrifugaron (5 min, 350 x g) y se lavaron dos veces con 150 µl/pocillo de PBS que contenía BSA al 0,1 %. La tinción de superficie para CD4 (IgG1,K de ratón; clon RPA-T4), CD8 (IgG1,K de ratón; clon HIT8a; BD n.º 555635), CD69 (IgG1 de ratón; clon L78; BD n.º 340560) y CD25 (IgG1,K de ratón; clon M-A251; BD n.º 555434) se realizó a 4 °C durante 30 min, de acuerdo con las sugerencias del proveedor. Las células se lavaron dos veces con 150 µl/pocillo de PBS que contenía BSA al 0,1 % y se fijaron durante 15 min a 4 °C, usando 100 µl/pocillo de tampón de fijación (BD n.º 554655). Después de la centrifugación, las muestras se resuspendieron en 200 µl/pocillo de PBS con BSA al 0,1 % y se analizaron usando una máquina FACS Canto II (programa informático FACS Diva). La figura 41 representa el nivel de expresión del marcador de activación temprana CD69 y del marcador de activación tardía CD25 en linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ después de 48 horas de incubación (resultados representativos de dos experimentos independientes). Los anticuerpos pSCHLI372-TCB CLC y

pSCHLI373-TCB CLC indujeron una regulación por incremento de los marcadores de activación CD69 y CD25 de manera específica y dependiente de la concentración en presencia de células diana positivas para BCMA. No se observó activación de los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ cuando los PBMC humanos se trataron con el anticuerpo de control TCB DP47, lo que sugiere que a pesar de la unión a CD3 en los linfocitos T, la activación de los linfocitos T no se produce cuando el anticuerpo TCB no se une a células diana positivas para BCMA.

Ejemplo 47

Citotoxicidad de linfocitos T redirigida de células de mieloma H929 con alta expresión de BCMA inducida por anticuerpos biespecíficos de linfocitos T anti-BCMA/anti-CD3 (ensayo colorimétrico de liberación de LDH)

También se analizaron anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI372, pSCHLI373) para determinar su potencial para inducir apoptosis mediada por linfocitos T en células de mieloma múltiple con expresión alta de BCMA tras la reticulación de la construcción por medio de la unión de los restos de unión a antígeno a BCMA en células. En resumen, células diana de mieloma múltiple H929 que expresan BCMA humano se recogieron con tampón de disociación celular, se lavaron y se resuspendieron en RPMI complementado con suero fetal bovino al 10 % (Invitrogen). Se sembraron aproximadamente 30000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se añadió la respectiva dilución de la construcción para obtener una concentración final deseada (por triplicado); variando las concentraciones finales de 0,12 pM a 100 nM. Para una comparación apropiada, se ajustaron todas las construcciones de TCB y controles a la misma molaridad. Se añadieron linfocitos T totales humanos (efectores) en los pocillos para obtener una proporción E:T final de 5:1. Cuando se usaron PBMC humanos como células efectoras, se usó una proporción E:T final de 10:1. Se representaron los grupos de control negativo por células efectoras o diana solo. Como control positivo para la activación de linfocitos pan T humanos, se usó 1 µg/ml de PHA-M (Sigma n.º L8902). Para la normalización, se determinó la lisis máxima de las células diana de mieloma múltiple H929 (= 100 %) por incubación de las células diana con una concentración final de Triton X-100 al 1 %, que indujo la muerte celular. Se representó la lisis mínima (= 0 %) por células diana coincubadas solo con células efectoras, es decir, sin ningún anticuerpo biespecífico de linfocitos T.

Después de 20-24 h o 48 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 %, se midió la liberación de LDH de las células diana de mieloma múltiple apoptóticas/necróticas en el sobrenadante con el kit de detección de LDH (Roche Applied Science), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se representó el porcentaje de liberación de LDH frente a las concentraciones de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA en curvas de respuesta a la concentración.

Se midieron los valores de CE50 usando el programa informático Prism (GraphPad) y se determinaron como la concentración de anticuerpo TCB que da como resultado un 50 % de liberación de LDH máxima. Como se muestra en las figuras 42A-B, los anticuerpos TCB CLC anti-BCMA, pSCHLI372-TCB CLC (Fig. 42A, B) y pSCHLI373-TCB CLC (Fig. 42B) indujeron una destrucción dependiente de la concentración de células de mieloma H929 positivas para BCMA según se midió por liberación de LDH. La destrucción de células H929 fue específica, puesto que el anticuerpo de control TCB DP47 que no se une a las células diana positivas para BCMA no indujo la liberación de LDH, incluso en la mayor concentración sometida a prueba de 100 nM. La tabla 45 resume los valores de CE50 para la destrucción por linfocitos T redirigida de células H929 positivas para BCMA inducida por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA.

Tabla 45: Valores de CE50 para la destrucción por linfocitos T redirigida de células H929 inducida por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA

Moléculas TCB anti-BCMA/anti-CD3	**CE50 (pM)**	**CE50 (µg/ml)**
pSCHLI333-TCB CLC	980	0,19
pSCHLI372-TCB CLC (Experimento 1)	450	0,08
pSCHLI373-TCB CLC	1590	0,31
pSCHLI372-TCB CLC (Experimento 2)	900	0,17

Ejemplo 48

Citotoxicidad de linfocitos T redirigida de células de mieloma U266 con expresión media/baja de BCMA inducida por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (ensayo de liberación de LDH)

Se analizaron anticuerpos TCB CLC anti-BCMA (pSCHLI372, pSCHLI373) para determinar su capacidad para inducir apoptosis mediada por linfocitos T en células de mieloma múltiple con expresión media/baja de BCMA tras la reticulación de la construcción por medio de la unión de los restos de unión a antígeno a BCMA en células. En resumen, células diana de mieloma múltiple U266 con expresión media/baja de BCMA humano se recogieron con tampón de disociación celular, se lavaron y se resuspendieron en RPMI complementado con suero fetal bovino al 10 % (Invitrogen). Se siembran aproximadamente 30000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se añadió la respectiva dilución de la construcción para obtener una concentración final deseada (por triplicado); variando las concentraciones finales de 0,12 pM a 100 nM. Para una comparación apropiada, se ajustaron todas las

construcciones de TCB y controles a la misma molaridad. Se añadieron linfocitos T totales humanos (efectores) en los pocillos para obtener una proporción E:T final de 5:1. Cuando se usaron PBMC humanos como células efectoras, se usó una proporción E:T final de 10:1. Se representaron los grupos de control negativo por células efectoras o diana solo. Como control positivo para la activación de linfocitos T humanos, se usó 1 µg/ml de PHA-M (Sigma n.º L8902). Para la normalización, se determinó la lisis máxima de las células diana de mieloma múltiple (= 100 %) por incubación de las células diana con una concentración final de Triton X-100 al 1 %, que indujo la muerte celular. Se representó la lisis mínima (= 0 %) por células diana coincubadas solo con células efectoras, es decir, sin ningún anticuerpo biespecífico de linfocitos T. Después de 20-24 h de incubación a 37 °C, CO_2 al 5 %, se midió la liberación de LDH de las células diana de mieloma múltiple apoptóticas/necróticas en el sobrenadante con el kit de detección de LDH (Roche Applied Science), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se representó el porcentaje de liberación de LDH frente a las concentraciones de anticuerpos TCB CLC anti-BCMA en curvas de respuesta a la concentración. Se midieron los valores de CE50 usando el programa informático Prism (GraphPad) y se determinaron como la concentración de anticuerpo TCB que da como resultado un 50 % de liberación de LDH máxima. La tabla 46 resume los valores de CE50 para la destrucción por linfocitos T redirigida de células U266 positivas para BCMA inducida por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA.

Tabla 46: Valores de CE50 para la destrucción por linfocitos T redirigida de células U266 inducida por anticuerpos TCB CLC anti-BCMA

Moléculas TCB anti-BCMA/anti-CD3	CE50 (pM)	CE50 (µg/ml)
pSCHLI372-TCB CLC	5700	1,1

Secuencias de aminoácidos de modos de realización ejemplares

1) Proteínas de unión a FolR útiles en formato de cadena ligera común, cadena pesada variable

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
16A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYAGVTPFDYWGQGTLVTVSS	1
18D3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYTGGSSAFDYWGQGTLVTVS	2
15H7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYLFSTSFDYWGQGTLVTVSS	3
15B6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYIGIVPFDYWGQGTLVTVSS	4
21D1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYVGVSPFDYWGQGTLVTVSS	5
16F12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNFTVLRVPFDYWGQGTLVTVSS	6
15A1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARNYYIGVVTFDYWGQGTLVTVSS	7
15A1_CDR1	SYYMH	8
15A1_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
15A1_CDR3	NYYIGVVTFDY	10
19E5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARGEWRRYTSFDYWGQGTLVTVSS	11
19E5_CDR1	SYYMH	8
19E5_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
19E5_CDR3	GEWRRYTSFDY	12
19A4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARGGWIRWEHFDYWGQGTLVTVSS	13
19A4_CDR1	SYYMH	8
19A4_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
19A4_CDR3	GGWIRWEHFDY	14
16D5	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSS	15
16D5_CDR1	NAWMS	16
16D5_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
16D5_CDR3	PWEWSWYDY	18
15E12	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCTTPWEWSYFDYWGQGTLVTVSS	19
15E12_CDR1	NAWMS	16
15E12_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
15E12_CDR3	PWEWSYFDY	20
21A5	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCTTPWEWAWFDYWGQGTLVTVSS	21
21A5_CDR1	NAWMS	16
21A5_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
21A5_CDR3	PWEWAWFDY	22
21G8	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCTTPWEWAYFDYWGQGTLVTVSS	23
21G8_CDR1	NAWMS	16
21G8_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
21G8_CDR3	PWEWAYFDY	24
19H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARTGWSRWGYMDYWGQGTLVTVSS	25
19H3_CDR1	SYYMH	8
19H3_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
19H3_CDR3	TGWSRWGYMDY	26
20G6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARGEWIRYYHFDYWGQGTLVTVSS	27
20G6_CDR1	SYYMH	8
20G6_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
20G6_CDR3	GEWIRYYHFDY	28
20H7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARVGWYRWGYMDYWGQGTLVTVSS	29
20H7_CDR1	SYYMH	8

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
20H7_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
20H7_CDR3	VGWYRWGYMDY	30

2) Proteína de unión a CD3, cadena ligera común (CLC)

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
cadena ligera común (VL) para CD3	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	31
cadena ligera común_CDR 1 para CD3	GSSTGAVTTSNYAN	32
cadena ligera común_CDR 2 para CD3	GTNKRAP	33
cadena ligera común_CDR 3 para CD3	ALWYSNLWV	34
cadena ligera común (VLCL) para CD3	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS	35

3) Proteína de unión a CD3, cadena pesada

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
cadena pesada variable (VH) para CD3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKG LEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	36
cadena pesada (VH)_CDR1 para CD3	TYAMN	37
cadena pesada (VH)_CDR2 para CD3	RIRSKYNNYATYYADSVKG	38
cadena pesada (VH)_CDR3 para CD3	HGNFGNSYVSWFAY	39
cadena pesada completa (VHCH1) para CD3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKG LEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSC	40
cadena pesada constante CH1 para CD3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSC	84

4) Proteínas de unión a MUC1 útiles en formato de cadena ligera común, cadena pesada variable

Antígenos MUC1			
SEQ ID NO	**Descripción**	**Nucleótido**	**Secuencia de aminoácidos**
57 y 58	MUC1 SEA-avi-His	ATGAGCTTTTTTTTCCTGAGCTTTCATATTAGC AACCTGCAGTTTAATAGCAGCCTGGAAGATCCG AGCACCGATTATTATCAAGAACTGCAGCGTGAT ATCAGCGAAATGTTTCTGCAGATCTATAAACAG GGTGGTTTTCTGGGTCTGAGCAACATCAAATTT	MSFFFLSFHISNLQ FNSSLEDPSTDYYQ ELQRDISEMFLQIY KQGGFLGLSNIKFR PGGGGGSVVVQLTL

		CGTCCGGGTGGTGGCGGTGGTTCAGTTGTTGTG CAGCTGACCCTGGCATTTCGTGAAGGCACCATT AATGTTCATGATGTGGAAACCCAGTTTAACCAG TATAAAACCGAAGCAGCAAGCCGTTATAATCTG ACCATTAGTGATGTTAGCGTTTCCGATGTTCCG TTTCCGTTTAGCGCACAGAGTGTCGACGGTCTG AATGATATTTTTGAAGCCCAGAAAATCGAATGG CATGAACTCGAGCACCACCACCACCACCAC	AFREGTINVHDVET QFNQYKTEAASRYN LTISDVSVSDVPFP FSAQSVDGLNDIFE AQKIEWHELEHHHH HH
Proteínas de unión a MUC1			
SEQ ID NO	**Descripción**	**Nucleótido**	**Secuencia de aminoácidos**
59 y 60	58D6 VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTT GAATGGTCTACTCTGCTGTACTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK VEWSTLLYFDYWGQ GTLVTVSS
61 y 62	106D2 VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTCGGGTTTATGCA ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGGTATTTCTGAAACTGGT TCTTACACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTTAC CCGTACGGTTTCGACTACTGGGGCCAAGGAACC CTGGTCACCGTCTCGAGT	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FRVYAMSWVRQAPG KGLEWVSGISETGS YTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR YPYGFDYWGQGTLV TVSS
63 y 64	110A5 VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATAC TCTTACCGTTACGTTCTGGCTTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK YSYRYVLAFDYWGQ GTLVTVSS
65 y 66	Cadena ligera común VL	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACA GTGTCTCCTGGCGGCACCGTGACCCTGACATGT GGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAAC TACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAG GCCTTCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAG AGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGA TCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTG TCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTAC TACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTG TTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTA	QAVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGA VTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKR APGTPARFSGSLLG GKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLW VFGGGTKLTVL

67 y 68	Cadena ligera común	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACA GTGTCTCCTGGCGGCACCGTGACCCTGACATGT GGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAAC TACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAG GCCTTCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAG AGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGA TCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTG TCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTAC TACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTG TTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTGCTGCGT ACGCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTG TTCCCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAAC AAGGCCACCCTGGTCTGCCTGATCAGCGACTTC TACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCC GACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACC ACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTAC GCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAG CAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACC GTGGCCCCCACCGAGTGCTCC	QAVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGA VTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKR APGTPARFSGSLLG GKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLW VFGGGTKLTVLRTQ PKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTV APTECS
69 y 70	Cadena pesada 58D6 botón	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTT GAATGGTCTACTCTGCTGTACTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCT AGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCC GCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCC CTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCCCTGCCGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGC GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGC GGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGA CTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGC ACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCT GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGA AGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCC GACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGG GACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGC TATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGC ACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGC	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK VEWSTLLYFDYWGQ GTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCD GGGGSGGGGSEVQL LESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSTY AMNWVRQAPGKGLE WVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCVRHG NFGNSYVSWFAYWG QGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEA

		AAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGC TGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACC GTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATAT ATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACC AAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGC GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTAC AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	AGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLS PGK
71 y 72	Cadena pesada 58D6 ojal	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTT GAATGGTCTACTCTGCTGTACTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCT AGCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCC CCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCC GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTG CTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCG TGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK VEWSTLLYFDYWGQ GTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIE KTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKN

		GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	QVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSP GK
73 y 74	Cadena pesada 110A5 botón	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATAC TCTTACCGTTACGTTCTGGCTTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCT AGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCC GCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCC CTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCCCTGCCGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGC GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGC GGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGA CTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGC ACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCT GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGA AGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCC GACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGG GACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGC TATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGC ACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGC AAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGC TGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACC GTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATAT	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK YSYRYVLAFDYWGQ GTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCD GGGGSGGGGSEVQL LESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSTY AMNWVRQAPGKGLE WVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCVRHG NFGNSYVSWFAYWG QGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKE

		ATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACC AAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGC GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTAC AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	YKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLS PGK
75 y 76	Cadena pesada 110A5 ojal	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCC ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATAC TCTTACCGTTACGTTCTGGCTTTCGACTACTGG GGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCT AGCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCC CCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCC GCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTG CTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCG TGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGC	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGG STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK YSYRYVLAFDYWGQ GTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIE KTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSP GK

		ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	

5) Proteínas de unión a BCMA útiles en formato de cadena ligera común, cadena pesada variable

Secuencias de aminoácidos	**pSCHLI333-TCB**	**pSCHLI372-TCB**	**pSCHLI373-TCB**
BCMA VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYMFSSFGMSWVRQAPGQGLEWMGWIYPVGQGTWYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVSYPPSHFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 77)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNSGMIWVRQAPGKGLEWVGHIRSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTGGSGSFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 78)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFSFSNSWMNWVRQAPGKGLEWVGTIRQKTYGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTGGLFGYWDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 79)
BCMA CDR1 (VH)	GYMFSSFGMS (SEQ ID NO: 80)	GFTFSNSGMI (SEQ ID NO: 81)	GFSFSNSWMN (SEQ ID NO: 82)
BCMA CDR2 (VH)	WIYPVGQGTWYAQKFQG (SEQ ID NO: 83)	HIRSKTDGGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 85)	TIRQKTYGGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 86)
BCMA CDR3 (VH)	VSYPPSHFDY (SEQ ID NO: 87)	GGSGSFDY (SEQ ID NO: 88)	GGLFGYWDY (SEQ ID NO: 89)
CD3 VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 90)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 91)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 92)
CD3 CDR1 (VL)	GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 93)	GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 93)	GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 93)
CD3 CDR2 (VL)	GTNKRAP (SEQ ID NO: 94)	GTNKRAP (SEQ ID NO: 94)	GTNKRAP (SEQ ID NO: 94)
CD3 CDR3 (VL)	ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 95)	ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 95)	ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 95)
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96)

CD3 CDR1 (VH)	TYAMN (SEQ ID NO: 98)	TYAMN (SEQ ID NO: 98)	TYAMN (SEQ ID NO: 98)
CD3 CDR2 (VH)	RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO: 99)	RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO: 99)	RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO: 99)
CD3 CDR3 (VH)	HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 100)	HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 100)	HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 100)
CD3 LC (CLC)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 101)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 101)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 101)
TCB que contiene Fc, 2+1 (molécula completa)			
BCMA pSCHLI333 VH CH1 x CD3 VH CH1 Fc botón LALA PG	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYMFSSFGMSWVRQAPGQGLEWMGWIYPVGQGTWYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVSYPPSHFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP	n.d.	n.d.

	LAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 102)		
BCMA pSCHLI333 HC ojal LALA PG	QVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYMFSSF GMSWVRQAPGQGLEWM GWIYPVGQGTWYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYC ARVSYPPSHFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEK TISKAKGQPREPQVCT LPPSRDELTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 103)	n.d.	n.d.

BCMA pSCHLI372 VH CH1 x CD3 VH CH1 Fc botón LALA PG	n.d.	EVQLVESGGGLVKPGGSLR LSCAASGFTFSNSGMIWVR QAPGKGLEWVGHIRSKTDG GTTDYAAPVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTGGSGSFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDGGGGS GGGGSEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVSRIR SKYNNYATYYADSVKGRFT ISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGNSYV SWFAYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 110)	n.d.
BCMA pSCHLI372 HC ojal LALA PG	n.d.	EVQLVESGGGLVKPGGSLR LSCAASGFTFSNSGMIWVR QAPGKGLEWVGHIRSKTDG GTTDYAAPVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTGGSGSFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKC	n.d.

		KVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVCTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 111)	
BCMA pSCHLI373 VH_CH1 x CD3 VH_CH1 Fc botón LALA PG	n.d.	n.d.	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFSFSNSWMNWVRQAPGKG LEWVGTIRQKTYGGTTDYAAPV KGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTGGLFGYWDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDGGGGSGGGGSEVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS TYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 113)
BCMA pSCHLI373 HC ojal LALA PG	n.d.	n.d.	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFSFSNSWMNWVRQAPGKG LEWVGTIRQKTYGGTTDYAAPV KGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTGGLFGYWDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)

83A10 VH	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC AKVLGWFDYWGQGTLV TVSS (SEQ ID NO: 115)		
83A10 CDRH1	SYAMS (SEQ ID NO: 116)		
83A10 CDRH2	AISGSGGSTYYADSVK G (SEQ ID NO: 117)		
83A10 CDRH3	VLGWFDY (SEQ ID NO: 118)		

6) DP47 no dirigido

Descripción	**Secuencia**	**SEQ ID NO**
DP47 GS cadena ligera	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSS YLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYG SSPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	119
Cadena ligera, CD3 humanizada $_{CH2527}$ (Crossfab, VL-CH1)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT TSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSC	120
DP47 GS (VH-CH1) - CD3 humanizada $_{CH2527}$ (Crossfab VH-Ck)- Fc(botón) P329GLALA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQ APGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC VRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSAS VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	121

DP47 GS (VH-CH1)-Fc(ojal) P329GLALA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL GAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	122

7) Secuencias diana ejemplares

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
CD3 humano		
FolR1 humano (ECD 25 - 234)	RIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNA CCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDT CLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCEQWWE DCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAVGAACQPFHFYFPT PTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEE VARFYAAAM	227
FolR1 murino (ECD 25-232)	TRARTELLNVCMDAKHHKEKPGPEDNLHDQCSPWKTNSCC STNTSQEAHKDISYLYRFNWNHCGTMTSECKRHFIQDTCL YECSPNLGPWIQQVDQSWRKERILDVPLCKEDCQQWWEDC QSSFTCKSNWHKGWNWSSGHNECPVGASCHPFTFYFPTSA ALCEEIWSHSYKLSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVA RFYAEAMS	230
FolR1 de macaco (ECD 25 - 234)	EAQTRTARARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQCRPW KKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGEMAPACKRHF IQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCE RWWEDCRTSYCKSNWHKGWNWTSGFNKCPVGAACQPFHFY FPTPTVLCNEIWTYSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNP NEEVARFYAAAMS	231

8) Secuencias de nucleótidos de modos de realización ejemplares

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO
16A3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACGCTGGTGTTACTCCGTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	151
15A1	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACATCGGTGTTGTTACTTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	152

18D3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACACTGGTGGTTCTTCTGCTT TCGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	153
19E5	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG NTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA	154
	TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGAATGGCGTCGTTACACTTCTTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	
19A4	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGGTTGGATCCGTTGGGAACATTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	155
15H7	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACCTGTTCTCTACTTCTTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	156
15B6	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAGGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACATCGGTATCGTTCCGTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	157
16D5	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	158
15E12	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCNGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTACTTCG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	159

21D1	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTACTACGTTGGTGTTTCTCCGTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	160
16F12	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG NTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCNTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCAACTTCACTGTTCTGCGTGTTCCGTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	161
21A5	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGGCTTGGTTCG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	162
21G8	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCTTGGGAATGGGCTTACTTCG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	163
19H3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCACTGGTTGGTCTCGTTGGGGTTACATGG ACTATTGGGGCCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	164
20G6	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGAATGGATCCGTTACTACCATTTCG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	165
20H7	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGTTGGTTGGTACCGTTGGGGTTACATGG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	166

11F8_VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGT CCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTCAGCAG CTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTCGAG TGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCAC AGAAGTTCCAGGGCAGGGTAACCATTACTGCAGACAAATCCACGAG CACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCC GTGTATTACTGTGCGAGAGCTGTTTTCTACCGTGCTTGGTACTCTT TCGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACCGTCTCCTCA	167
11F8_VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACCGTGTCACCATCACTTGCCGTGCCAGTCAGAGTATTAGTAG CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCACGTT TCAGCGGCAGTGGATCCGGGACAGAATTCACTCTCACCATCAGCAG CTTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATACC AGCCCACCACCAACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGATCAAG	168
36F2_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	169
36F2_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT ACCAACGAACATTATTATACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAA TCAAA	170
9D11_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGG GTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	171
9D11_VL	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGACTTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAA	172
9D11_VL N95S	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGAGCCGGACTTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAA	173

9D11_VL N95Q	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGCAGCGGACTTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAA	174
9D11_VL T97A	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGGCTTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAA	175
9D11_VL T97N	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGAATTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAA	176
5D9_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCTCTTACATCGACATGGACTATTGGGGTC AAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	177
5D9_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGAT AACTGGAGCCCAACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCAAA	178
6B6_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCTCTTACGTTGACATGGACTATTGGGGTC AAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	179
6B6_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACCTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGAT ATTTGGAGCCCAACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCAAA	180

14E4_VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAG TTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGACTCTTCTTACGTTGAATGGTACGCTT TCGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	181
14E4_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTCCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGCCA ACCAGCAGCCCAATTACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCA AA	182
Cadena pesada (VHCH1) para CD3	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACC TTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGC AAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAAC AACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGT GTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTTT GCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCT AGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGC AAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCT GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTG CCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTC AATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAG CCCAAGAGCTGC	183
Cadena pesada cruzada (VHCκ) para CD3	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAG CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCT ATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGT GTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCA TCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGTCTGC TGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGA TAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAG GACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGT CTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGT	184
Cebador de mutagénesis GAB7734 N95Q	GCAGGCAAGCATTATGCAGCGGACTTTTGGTCAAGG	185

Cebador de mutagénesis GAB7735 N95S	CAGGCAAGCATTATGAGCCGGACTTTTGGTCAAGG	186
Cebador de mutagénesis GAB7736 T97A	CATTATGAACCGGGCTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTC	187
Cebador de mutagénesis GAB7737 T97N	CATTATGAACCGGAATTTTGGTCAAGGCACCAAGGTC	188
VHCH1[16D5]_VHCH1[CD3]_Fck(botón)_PGLALA pCON999 (**TCB invertido con 16D5 2+1:** pCON999 + pCON983 + pETR13197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCAC AAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACA AGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGG CGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCC CTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGA GGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGG TGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTT CACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGC AAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACT ACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACT TCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCAC CCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTC TGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCG TGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAA TCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAG AGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAG CTGCAGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	189

VHCH1[16D5]_Fc(ojal)_PGLALA_HYRF pCON983	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCAC CAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACC AGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGG CGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGC CTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCAC CCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTC TCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA	190
CD3_cadena ligera común pETR13197	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCG GCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCAC CAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTG CCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTG TGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAG TCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCC CAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTCTGCCTG ATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCG ACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAA GCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACC CCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCC ACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACCGAGTGCAG C	191
VHCH1[CD3]_VHCH1[16D5]_Fck(botón)_PGLALA pETR13932 (**TCB clásico con 16D5; 2+1:** pETR 13932+ pCON983 + pETR13197)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAG CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCT ATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGT GTCATCTGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCC AGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGG AGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGC	192

	AGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCA GCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAG CAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGC GGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAATTGGTTGAAT CTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCCTGCGTCTGAGCTG CGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAGCTGGGTT CGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAGT CTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGG TCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTG CAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTA CTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCAC GCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTC TGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCG TGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAA TCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAG AGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAG CTGCAGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
VHCH1[CD3]_Fc(botón)_PGLALA pETR13719 (formato **IgG 16D5**, **1+1:** pETR13719 + pCON983 + pETR13197)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAG CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCT ATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGT GTCATCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGG CGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCG	193

	CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTA CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
Fc_ojal_PGLALA_HYRF pETR10755 **(16D5 cabeza a cola, 1+1:** pCON999 + pETR10755 + pETR13197)	GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGG GGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCG CTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	194
VHCH1[9D11]_VHCL[CD3]_Fc(botón)_PGLALA pCON1057 **(formato invertido 9D11, 2+1:** pCON1057 + pCON1051 + pCON1063 + pETR12940)	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGG GTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACAAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGA ACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCTG TGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACAC CTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGT GGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGA TCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTG GCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG CACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTG GAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCT ACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGAC CGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCC CCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGTC TGCTGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGT GGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAA CAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACAC TGTCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTG AAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAA	195

	GGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG TGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA ACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
9D11_Fc(ojal)_PGLALA_HYRF pCON1051	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAA TGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGG GTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCC CTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGC ACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCG TGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACAC CTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGT GGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCC ATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCA GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC GGGTAAA	196
9D11_LC pCON1063	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCA CTCCAACGGCTACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGT CAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCG GTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCAC GTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTAC TGTATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGACTTTTGGTCAAGGCACCA AGGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTG TGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTG ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCG AAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA CAGGGGAGAGTGT	197

VLCH1[CD3] pETR12940	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCG GCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCAC CAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTG CCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTG TGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAG TGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAAGGCCCTTCCGTGTTTCCTCTGGC TCCTAGCTCCAAGTCCACCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTCGGATGC CTCGTGAAGGATTATTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCCTGGAATA GCGGAGCACTGACCTCTGGAGTGCATACTTTCCCCGCTGTGCTGCA GTCCTCTGGACTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCAGC AGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTTGT	198
VHCL[CD3]_Fc(botón)_ PGLALA pETR13378 **(formato 9D11 CrossMab, 1+1:** pETR13378 + pCON1051 + pCON1063 + pETR12940)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAG CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCT ATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGT GTCATCTGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCA TCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGTCTGC TGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGA TAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAG GACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGT CTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGAAG CTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGA CACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTG GATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGG ACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	199
16D5 invertido 2+1 con N100A en CDR H3 pETR14096 (pETR14096 + pCON983 + pETR13197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCAC	200

	AAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACA AGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGG CGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCC CTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGA GGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGG TGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTT CACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGC AAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACT ACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACT TCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCAC CCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTC TGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCG TGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAA TCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAG AGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAG CTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
16D5 invertido 2+1 con S100aA en CDR H3 pETR14097 (pETR14097 + pCON983 + pETR13197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCAC AAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACA AGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGG CGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCC CTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGA GGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGG TGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTT CACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGC	201

	AAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACT ACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACT TCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCAC CCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTC TGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCG TGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAA TCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAG AGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAG CTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
CD3 cadena ligera fusionada a CH1; Fc_PGLALA; pETR13862 (anticuerpo kappa-lambda con cadena ligera común para CD3 fusionada a CH1+Fc_PGLALA. VH fusionados a cadena constante kappa o lambda pETR13859 + pETR13860 + pETR13862)	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCG GCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCAC CAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTG CCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTG TGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAG TGCTGAGCAGCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACT CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCA TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC GGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTT	202

	CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
16D5 VH fusionado a cadena kappa constante; pETR13859	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAG TGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATT ACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGAC ACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACG ATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCGT GGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTG AAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTC CGGCAACAGCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACG AGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTC TAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGC	203
CD3 VH fusionado a cadena lambda constante; pETR13860	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGATCCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACGACTC CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACTCCT ATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGT GTCATCTGCTAGCCCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTTCCC CCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTCTGCC TGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGC CGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGC AAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGA CCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGAC CCACGAGGGCAGCACC GTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACCGAGTGCAGC	204
VHCH1[36F2]_VHCL[CD3]_Fc(botón)_PGLALA pCON1056	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCATGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCTCTTTCTTCACT GGTTTCCATCTGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT GCTAGCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGC ACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCC GAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCAC ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTG GTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTG CTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGC TGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGC CAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTAC AACAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC AGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAAC AGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTG TCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCATCCGAT GAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGTCTGCTGAACAATTTT TACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCACTGCAGTCC	246

	GGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGACTCCAAGGACAGCACCTAC TCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTGATTATGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGT CCTGCCCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAC GGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG TACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG TGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
36F2-Fc(ojal) PGLALA pCON1050	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCATGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCTCTTTCTTCACT GGTTTCCATCTGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT GCTAGCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGC ACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCAC ACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTG GTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAG AGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCA GGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCC CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC CTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	247
36F2 LC pCON1062	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGA GCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCC GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCA GTGTATTACTGTCAGCAGTATACCAACGAACATTATTATACGTTCGGCCAG GGGACCAAAGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCANGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	97

CD3 VLCH1 pETR12940	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACC GTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGC GGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTG CTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAG GCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGA GGCACCAAGCTGACAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAAGGCCCTTCCGTG TTTCCTCTGGCTCCTAGCTCCAAGTCCACCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTC GGATGCCTCGTGAAGGATTATTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCCTGGAAT AGCGGAGCACTGACCTCTGGAGTGCATACTTTCCCCGCTGTGCTGCAGTCC TCTGGACTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCAGCAGCAGCCTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTTGT	198

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
K53A nt	CAGACCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACC GTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGAGGACTGATCGGC GGCACCAACGCCAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTG CTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGTGCAGCCTGAAGATGAG GCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGA GGCACCAAGCTGACAGTCCTA	205
S93A nt	CAGACCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACC GTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGAGGACTGATCGGC GGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTG CTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGTGCAGCCTGAAGATGAG GCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACGCCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGA GGCACCAAGCTGACAGTCCTA	206

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
S35H nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGATCT CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTGGATG CACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGGACGGATC AAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCCTGTGAAGGGC CGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCCTGG GAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCC TCTGCTAGC	207
G49S nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGATCT CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTGGATG AGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGTCCCGGATC AAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCCTGTGAAGGGC CGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCCTGG GAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCC TCTGCTAGC	208
R50S nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGATCT CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTGGATG AGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGGATCTATC AAGAGCAAGACCGACGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCCTGTGAAGGGC CGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCCTGG GAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCC TCT GCTAGC	209
W96Y nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGATCT CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTGGATG AGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGGACGGATC AAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCCTGTGAAGGGC CGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCCTAC GAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCA TCT GCTAGC	210

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
W98Y nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGATCT CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTGGATG AGCTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGGACGGATC AAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCCTGTGAAGGGC CGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATG AACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCCTGG GAGTACTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCA TCT GCTAGC	211

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
90D7 nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCAACTACACTATC GTTGTTTCTCCGTTCGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCT TCTGCTAGC	212
90C1 nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCAACTACTTCATC GGTTCTGTTGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCT TCTGCTAGC	213
5E8 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTCTGACTTAC TCTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	214
5E8 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGAA CCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAACGGC TACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTCAGCTG CTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGC GGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCA GAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGATTCCAAACACT TTTGGTCAAGGCACCAAGGTCGAAATTAAACGTACG	215
12A4 VH nt	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGCAGTTATGCCATG AGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATT AGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATACGCTTACGCT CTGGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAGC	216
12A4 VL nt	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGA GCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCC GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCA GTGTATTACTGTCAGCAGCATGGCAGCAGCAGCACGTTCGGCCAGGGGACC AAAGTGGAAATCAAACGTACG	217
7A3 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCTCT GCTGGTCGTCTGATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCT TCTGCTAGC	218

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
7A3 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGAA CCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAACGGC TACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTCAGCTG CTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGC GGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCA GAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGACCCCACCAATT ACCTTTGGTCAAGGCACCAAGGTCGAAATTAAACGTACG	219
6E10 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTACAAC GCTTTCGACTATTGGGGTCACGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	220
6E10 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGAA CCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAACGGC TACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTCAGCTG CTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGC GGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCA GAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCATGGCATAGCCCAACTTTT GGTCAAGGCACCAAGGTCGAAATTAAACGTACG	221
12F9 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCC GTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATG CACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATT AACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTC ACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGC CTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGCTACTTAC ACTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	222
12F9 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGAA CCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAACGGC TACAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTCAGCTG CTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGC GGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCA GAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGACCCCAATTACT TTTGGTCAAGGCACCAAGGTCGAAATTAAACGTACG	223

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
pETR11646 Mov19 VH-CH1-Fc(ojal) PG/LALA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGCCTCC GTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCTACTTCATG AACTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCAGAATC CACCCCTACGACGGCGACACCTTCTACAACCAGAACTTCAAGGACAAGGCC ACCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAACACCGCCCACATGGAACTGCTGAGC CTGACCAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCACCAGATACGACGGCAGC CGGGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACAGTGTCCAGCGCT AGCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACC AGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTC ACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGC GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGA CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTG AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCGGGTAAA	224

Denominación	Secuencia	SEQ ID NO
pETR11647 Mov19 VH-CH1-CD3 VH-CL-Fc(botón) PG/LALA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGCCTCC GTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCTACTTCATG AACTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCAGAATC CACCCCTACGACGGCGACACCTTCTACAACCAGAACTTCAAGGACAAGGCC ACCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAACACCGCCCACATGGAACTGCTGAGC CTGACCAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCACCAGATACGACGGCAGC CGGGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACAGTGTCCAGCGCT AGCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACA TCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCTGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACC TTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTC ACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGT GATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTGGAA AGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTAAGGGCTCTCTGAAGCTGAGCTGTGCC GCCAGCGGCTTCACCTTCAACACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCC CCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAAT TACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGACCGGTTCACCATCAGCCGG GACGACAGCCAGAGCATCCTGTACCTGCAGATGAACAACCTGAAAACCGAG GACACCGCCATGTACTACTGCGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCTAT GTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACAGTGTCTGCT GCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCATCCGATGAACAG CTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCGTGTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCT AGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCACTGCAGTCCGGCAAC TCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTG TCCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTAC GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTC AACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCT GAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTG TCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	225
pETR11644 Mov19 LC	GACATCGAGCTGACCCAGAGCCCTGCCTCTCTGGCCGTGTCTCTGGGACAG AGAGCCATCATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGTCCTTTGCCGGCACC TCTCTGATGCACTGGTATCACCAGAAGCCCGGCCAGCAGCCCAAGCTGCTG ATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAGCCGGCGTGCCCACAAGATTTTCCGGC AGCGGCAGCAAGACCGACTTCACCCTGAACATCCACCCCGTGGAAGAAGAG GACGCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAGAGAGTACCCCTACACCTTC GGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	226

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
16D5 VH_D52d E	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAG TCTAAAACTGAGGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTT TTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTC TCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGG TCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	261

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
16D5 VH_D52d Q	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAG TCTAAAACTCAGGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTT TTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTC TCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGG TCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	262
CD3_VH N100A	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTC TGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAA CTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGA AGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAG CCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTC GGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGA CCGTGTCAAGC	263
CD3_VH S100aA	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTC TGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAA CTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGA AGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAG CCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTC GGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGA CCGTGTCAAGC	264
16D5[VHCH1]-CD3[VHCH1-N100A]-Fc(botón)_PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAG TCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTT TTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTC TCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGG TCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTA GCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAG CGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCC CTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGT GCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCG GAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGG CGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAG GCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGT ACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGC CTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGC CCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAG CCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCT CCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACAC CAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG TGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	265

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
16D5-Fc(ojal)-PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAG TCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTT TTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTC TCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGG TCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTA GCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAG CGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGT GCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG CCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCG TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	266
CD3-CLC	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCG TGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGC CAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGCGGC ACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGG GAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGA GTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACC AAGCTGACAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCC CCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTCTGCCTGAT CAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGC CCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACA AGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCA CAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACC GTGGCCCCCACCGAGTGCAGC	267
16D5[VHCH1]-CD3[VHCH1-S100aA]-Fc(botón)_PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCGTATCAAG TCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTT	268

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
	TTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTC TCTGAAAACTGAAGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGG TCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTA GCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAG CGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCC CTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGT GCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCG GAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGG CGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAG GCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGT ACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGC CTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGC CCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAG CCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC TTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCT CCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACAC CAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG TGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
9D11[VHCH1]-CD3[VHCL-N100A]-Fc(botón)_PGLALA	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCCG TTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATGCA CTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATTAAC CCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGA TGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCG TTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTG GACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACAAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTG TCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGT CCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGT GCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTC AGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAAT GGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCCGA CAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTG TGCGGCACGGCAACTTCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGG CCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTG TTTATCTTTCCCCCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCG TGTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGT GGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGAC TCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTG	269

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
	ATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAG CTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACACC TGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGT TCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGG TACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG ACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
9D11-Fc(ojal)	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCCG TTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATGCA CTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATTAAC CCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGA TGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCG TTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTG GACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGG GCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC AGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTT CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	270
9D11_LC[N95Q]	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGAAC CGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAACGGCTA CAACTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTCAGCTGCTG ATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCT CTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGA CGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCAAGCATTATGCAGCGGACTTTTGGT CAAGGCACCAAGGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	271

Variante	Secuencia	SEQ ID NO
CD3_VLC H1	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCG TGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGC CAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGCGGC ACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGG GAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGA GTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACC AAGCTGACAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAAGGCCCTTCCGTGTTTCCTC TGGCTCCTAGCTCCAAGTCCACCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTCGGATGCCT CGTGAAGGATTATTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCCTGGAATAGCGGAGCA CTGACCTCTGGAGTGCATACTTTCCCCGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGACTGT ACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAG GTGGAACCCAAGTCTTGT	272
9D11[VHCH1]-CD3[VHCH1-S100aA]-Fc(botón)_PGLALA	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCCG TTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATGCA CTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATTAAC CCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGA TGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCG TTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTG GACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACAAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTG TCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGT CCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGT GCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTC AGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAAT GGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCCGA CAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTG TGCGGCACGGCAACTTCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGG CCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTG TTTATCTTTCCCCCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCG TGTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGT GGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGAC TCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTG ATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAG CTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACACC TGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCCTGT TCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGG TACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG ACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	273

9) <u>Secuencias de nucleótidos y proteínas de cadena ligera común adicionales</u>

CH2527 (VL_7-46(13)/VH_3-23(12))		SEQ ID NO.
Cadena pesada "CH2527 (VH_3-23(12))"	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQ APGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	123
Cadena ligera "CH2527 (VL_7-46(13))"	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQ EKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	124
VH "CH2527 (VH_3-23(12))"	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQ APGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GTLVTVSS	36
VH CDR H1 "CH2527 (VH_3-23(12))"	TYAMN	37
VH CDR H2 "CH2527 (VH_3-23(12))"	RIRSKYNNYATYYADSVKG	38
VH CDR H3 "CH2527 (VH_3-23(12))"	HGNFGNSYVSWFAY	39
VL "CH2527 (VL_7-46(13))"	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQ EKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	125
VL CDR L1 "CH2527 (VL_7-46(13))"	GSSTGAVTTSNYAN	32
VL CDR L2 "CH2527 (VL_7-46(13))"	GTNKRAP	33
VL CDR L3 "CH2527 (VL_7-46(13))"	ALWYSNLWV	34

10) <u>Secuencias de ADN CD3 humanizado CH2527 (CDR/VH/VL)</u>

CH2527 (VL 7-46(13)/VH 3-23(12))		SEQ ID NO.
Cadena pesada "CH2527 (VH_3-23(12))"	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGC AACAGCTACCGGTGTGCATTCCGAGGTGCAGCTGC TGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCAC CTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGG CCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATC AGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGC CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGG ACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAAC AGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTG TGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCTATGTGT CTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTG ACCGTGTCATCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC	126

CH2527 (VL 7-46(13)/VH 3-23(12))		SEQ ID NO.
	TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG CTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCC AGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	
Cadena ligera "CH2527 (VL_7-46(13))"	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGC AACAGCTACCGGTGTGCATTCTCAGGCCGTCGTGA CCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGC CGTGACCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGG AAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGC GGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAG ATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCC TGACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCC GAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTG GGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTAG GTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTC CCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGC CACCCTGGTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAG GCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGC CCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAG CAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCT ACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCAC AGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAG CACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACCGAGTGCA GCTGA	127
VH "CH2527 (VH_3-23(12))"	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGC AACAGCTACCGGTGTGCATTCCGAGGTGCAGCTGC TGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCAC CTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGG CCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATC AGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGC CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGG ACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAAC AGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTG TGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCTATGTGT CTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTG ACCGTGTCATCT	128

CH2527 (VL 7-46(13)/VH 3-23(12)		SEQ ID NO.
VH CDR H1 "CH2527 (VH_3-23(12))"	ACCTACGCCATGAAC	129
VH CDR H2 "CH2527 (VH_3-23(12))"	CGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGC	130
VH CDR H3 "CH2527 (VH_3-23(12))"	CACGGCAACTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTT TGCCTAC	131
VL "CH2527 (VL_7-46(13))"	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGC AACAGCTACCGGTGTGCATTCTCAGGCCGTCGTGA CCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGC CGTGACCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGG AAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGC GGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAG ATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCC TGACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCC GAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTG GGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTA	132
VL CDR L1 "CH2527 (VL_7-46(13))"	GGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTA CGCCAAC	133
VL CDR L2 "CH2527 (VL_7-46(13))"	GGCACCAACAAGAGAGCCCCT	134
VL CDR L3 "CH2527 (VL_7-46(13))"	GCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTG	135

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

<120> CADENAS LIGERAS COMUNES Y PROCEDIMIENTOS DE USO

<130> 32398

<140>
<141>

<150> EP 14194097.3
<151> 20/11/2014

<160> 273

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 1

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Ala Gly Val Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 2
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 2

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Thr Gly Gly Ser Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
        115                 120
```

<210> 3
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 3

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
```

```
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Leu Phe Ser Thr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 4
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 4

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Ile Gly Ile Val Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 5
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 5

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Val Gly Val Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 6
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 6

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Phe Thr Val Leu Arg Val Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 7

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Tyr Tyr Ile Gly Val Val Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 8

Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 9

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 10

Asn Tyr Tyr Ile Gly Val Val Thr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 11
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 11

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Glu Trp Arg Arg Tyr Thr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 12

```
Gly Glu Trp Arg Arg Tyr Thr Ser Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 13

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15
```

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Trp Ile Arg Trp Glu His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 14

```
Gly Gly Trp Ile Arg Trp Glu His Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 15

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
```

```
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 16

```
Asn Ala Trp Met Ser
1               5
```

<210> 17
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 17

```
Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1               5                   10                  15

Val Lys Gly
```

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 18

```
Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr
1               5
```

<210> 19

<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 19

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 20

```
Pro Trp Glu Trp Ser Tyr Phe Asp Tyr
1               5
```

<210> 21
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 21

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ala Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 22

```
Pro Trp Glu Trp Ala Trp Phe Asp Tyr
1               5
```

<210> 23

<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 23

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 24

```
Pro Trp Glu Trp Ala Tyr Phe Asp Tyr
1               5
```

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 25

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Thr Gly Trp Ser Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 26

```
Thr Gly Trp Ser Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 27
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 27

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Glu Trp Ile Arg Tyr Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 28

```
Gly Glu Trp Ile Arg Tyr Tyr His Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 29
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 29

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
```

```
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Val Gly Trp Tyr Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 30

```
Val Gly Trp Tyr Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 31
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 31

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45
```

```
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 32
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 32

```
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1               5                   10
```

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 33

```
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1               5
```

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 34

```
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1               5
```

<210> 35
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 35

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115                 120                 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 36
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 36

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 37

```
Thr Tyr Ala Met Asn
1               5
```

<210> 38
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 38

```
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1               5                   10                  15

Val Lys Gly
```

<210> 39
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 39

```
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1               5                   10
```

<210> 40
<211> 228
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 40

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
    210                 215                 220
Pro Lys Ser Cys
225
```

<210> 41
<211> 50

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<220>
<221> misc_feature

<222> (1) . . (50)
<223> /nota = "Esta secuencia puede englobar 1-10 unidades repetitivas 'Gly Gly Gly Gly Ser', en las que algunas posiciones pueden estar ausentes"

<220>
<221> fuente
<223> /nota = "Véase la memoria descriptiva presentada para la descripción detallada de las sustituciones y los modos de realización preferentes"

<400> 41

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1               5                   10                  15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Ser
    50
```

<210> 42
<211> 50
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<220>
<221> misc_feature

<222> (1) . . (50)
<223> /nota = "Esta secuencia puede englobar 1-10 unidades repetitivas 'Ser Gly Gly Gly Gly', en las que algunas posiciones pueden estar ausentes"

<220>
<221> fuente
<223> /nota = "Véase la memoria descriptiva presentada para la descripción detallada de las sustituciones y los modos de realización preferentes"

<400> 42

```
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1               5                   10                  15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Gly
    50
```

<210> 43
<211> 54
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<220>
<221> misc_feature

<222> (5) . . (54)
<223> /nota = "Esta región puede englobar 1-10 unidades repetitivas 'Ser Gly Gly Gly Gly', en las que algunas posiciones pueden estar ausentes"

<220>
<221> fuente
<223> /nota = "Véase la memoria descriptiva presentada para la descripción detallada de las sustituciones y los modos de realización preferentes"

<400> 43

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1               5                   10                  15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    50
```

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 44

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1               5                   10
```

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: marca de 5xHis sintética"

<400> 45

His His His His His
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 46

Met Gln Ala Ser Ile Met Asn Arg Thr
1 5

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: marca de 6xHis sintética"

<400> 47

His His His His His His
1 5

<210> 48
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 48

aagcttggat ccatgttgca gatggctggg cagtgctcc 39

<210> 49
<211> 49
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 49

gaattcgcgg ccgctcatcc tttcactgaa ttggtcacac ttgcattac 49

<210> 50
<211> 42
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 50

acgttagatc tccactcagt cctgcatctt gttccagtta ac 42

<210> 51
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 51

aacgttgcgg ccgctagttt cacaaacccc agg 33

<210> 52
<211> 45
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 52

gaattcaagc ttgccaccat gttgcagatg gctgggcagt gctcc 45

<210> 53
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 53

gaattctcta gattacctag cagaaattga tttctctatc tccgtagc 48

<210> 54
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 54

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly His Ile Arg Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 55
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 55

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Thr Ile Arg Gln Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 56
<211> 207
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

```
Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1               5                  10                  15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
            20                  25                  30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
        35                  40                  45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
    50                  55                  60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65                  70                  75                  80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
            100                 105                 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
        115                 120                 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
    130                 135                 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
            180                 185                 190
 Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
         195                 200                 205
```

<210> 57
<211> 426
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 57

```
atgagctttt ttttcctgag ctttcatatt agcaacctgc agtttaatag cagcctggaa       60

gatccgagca ccgattatta tcaagaactg cagcgtgata tcagcgaaat gtttctgcag      120

atctataaac agggtggttt tctgggtctg agcaacatca aatttcgtcc gggtggtggc      180

ggtggttcag ttgttgtgca gctgaccctg gcatttcgtg aaggcaccat taatgttcat      240

gatgtggaaa cccagtttaa ccagtataaa accgaagcag caagccgtta taatctgacc      300

attagtgatg ttagcgtttc cgatgttccg tttccgttta gcgcacagag tgtcgacggt      360

ctgaatgata tttttgaagc ccagaaaatc gaatggcatg aactcgagca ccaccaccac      420

caccac                                                                 426
```

<210> 58
<211> 142
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 58

```
Met Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln Phe Asn
1               5                  10                  15

Ser Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu Leu Gln Arg
            20                  25                  30

Asp Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly Gly Phe Leu
        35                  40                  45

Gly Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Val
    50                  55                  60

Val Val Gln Leu Thr Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His
65                  70                  75                  80
Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg
                85                  90                  95

Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro
            100                 105                 110

Phe Ser Ala Gln Ser Val Asp Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln
        115                 120                 125

Lys Ile Glu Trp His Glu Leu Glu His His His His His His
    130                 135                 140
```

<210> 59
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 59

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagttgaa      300

tggtctactc tgctgtactt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt      360
```

<210> 60
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 60

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Val Glu Trp Ser Thr Leu Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 61
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 61

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttcgg gtttatgcaa tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt atttctgaaa ctggttctta cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgttacccg      300

tacggtttcg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt                  348
```

<210> 62
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 62

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Val Tyr
            20                  25                  30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Gly Ile Ser Glu Thr Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Tyr Pro Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 63
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 63

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatactct      300

taccgttacg ttctggcttt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt      360
```

<210> 64
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 64

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Tyr Ser Tyr Arg Tyr Val Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 65
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 65

```
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg      60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa     120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc     180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc     240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc     300

ggcggaggca ccaagctgac agtccta                                         327
```

<210> 66
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 66

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 67
<211> 648
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 67

```
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg      60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa     120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc     180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc     240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc     300

ggcggaggca ccaagctgac agtgctgcgt acgcaaccca aggctgcccc cagcgtgacc     360

ctgttccccc ccagcagcga ggaactgcag gccaacaagg ccaccctggt ctgcctgatc     420

agcgacttct acccaggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ccgacagcag ccccgtgaag     480

gccggcgtgg agaccaccac ccccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc     540

tacctgagcc tgacccccga gcagtggaag agccacaggt cctacagctg ccaggtgacc     600

cacgagggca gcaccgtgga gaaaaccgtg gcccccaccg agtgctcc                  648
```

<210> 68
<211> 216
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 68

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr Gln
            100                 105                 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
        115                 120                 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
    130                 135                 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145                 150                 155                 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
                165                 170                 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
            180                 185                 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
        195                 200                 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 69
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 69

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagttgaa 300

tggtctactc tgctgtactt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt 360

gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc 420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct 480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc 660

aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa 720

tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc 780

ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa 840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg 900

aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac 960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac 1020

agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct 1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga 1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg 1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc 1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat 1320

atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag 1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg 1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 1500

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1740

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg 1800

accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1920

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 2067

<210> 70
<211> 689
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 70

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Val Glu Trp Ser Thr Leu Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
```

```
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
225                 230                 235                 240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                245                 250                 255

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
            260                 265                 270

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
        275                 280                 285

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    290                 295                 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305                 310                 315                 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
                325                 330                 335

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
            340                 345                 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        355                 360                 365
```

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    370                 375                 380

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
385                 390                 395                 400

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                405                 410                 415

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            420                 425                 430

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        435                 440                 445

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    450                 455                 460

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
465                 470                 475                 480

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                485                 490                 495

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            500                 505                 510

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        515                 520                 525

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    530                 535                 540

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
                565                 570                 575

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            580                 585                 590

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
        595                 600                 605

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    610                 615                 620
```

```
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
625                 630                 635                 640

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                645                 650                 655

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            660                 665                 670

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        675                 680                 685

Lys
```

<210> 71
<211> 1350
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 71

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagttgaa      300

tggtctactc tgctgtactt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt      360

gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc      420

ggcacagccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc      480

tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct      540

ggcctgtata gcctgagcag cgtggtcacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc      600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc      660

aagagctgcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga      720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct      780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg      840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac      900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag      960
```

```
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc     1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgcccccatc ccgggatgag     1080

ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc     1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg     1200

ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg     1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg     1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                      1350
```

<210> 72
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 72

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Val Glu Trp Ser Thr Leu Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
```

```
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450
```

<210> 73
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 73

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggGTC cctgagactc      60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct     120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac     180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat     240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatactct     300

taccgttacg ttctggcttt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt     360

gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc     420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagccCGT gacagtgtct     480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc     540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc     600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc     660

aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa     720

tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc     780

ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa     840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg     900

aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac     960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac    1020

agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct    1080
```

```
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga     1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg     1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc     1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat     1320

atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag     1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggggaccg     1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag     1500

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac     1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc     1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa     1740

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg     1800

accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1920

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa                                        2067
```

<210> 74
<211> 689
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 74

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Tyr Ser Tyr Arg Tyr Val Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
225                 230                 235                 240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                245                 250                 255

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
            260                 265                 270

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
        275                 280                 285

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    290                 295                 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305                 310                 315                 320
```

```
Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
                325                 330                 335

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
            340                 345                 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        355                 360                 365

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    370                 375                 380

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
385                 390                 395                 400

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                405                 410                 415

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            420                 425                 430

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        435                 440                 445

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    450                 455                 460

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
465                 470                 475                 480

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                485                 490                 495

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            500                 505                 510

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        515                 520                 525

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    530                 535                 540

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
                565                 570                 575
```

```
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            580                 585                 590

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
        595                 600                 605

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    610                 615                 620

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
625                 630                 635                 640

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                645                 650                 655

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            660                 665                 670

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        675                 680                 685

Lys
```

<210> 75
<211> 1350
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 75

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatactct      300

taccgttacg ttctggcttt cgactactgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt      360

gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc      420

ggcacagccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc      480

tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct      540
```

```
ggcctgtata gcctgagcag cgtggtcacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc      600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc      660

aagagctgcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga      720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct      780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg      840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac      900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag      960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc     1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgcccccatc ccgggatgag     1080

ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc     1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg     1200

ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg     1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg     1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                      1350
```

<210> 76
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 76

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Lys Tyr Ser Tyr Arg Tyr Val Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
            340                 345                 350
```

```
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450
```

<210> 77
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 77

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Met Phe Ser Ser Phe
            20                  25                  30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Gly Gln Gly Thr Trp Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Val Ser Tyr Pro Pro Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 78

<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 78

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly His Ile Arg Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 79
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 79

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Thr Ile Arg Gln Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 80

```
Gly Tyr Met Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
1               5                   10
```

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 81

```
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser Gly Met Ile
1               5                   10
```

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 82

```
Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Trp Met Asn
1               5                   10
```

<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 83

```
Trp Ile Tyr Pro Val Gly Gln Gly Thr Trp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 84
<211> 103
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 84

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
            100
```

<210> 85
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 85

```
His Ile Arg Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1               5                   10                  15

Val Lys Gly
```

<210> 86
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 86

```
Thr Ile Arg Gln Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1               5                   10                  15

Val Lys Gly
```

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 87

```
Val Ser Tyr Pro Pro Ser His Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

<210> 88
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 88

```
Gly Gly Ser Gly Ser Phe Asp Tyr
1               5
```

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 89

```
Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Trp Asp Tyr
1               5
```

<210> 90
<211> 109
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 90

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 91
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 91

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 92
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 92

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 93
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 93

```
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1               5                   10
```

<210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 94

```
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1               5
```

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 95

```
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1               5
```

<210> 96
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 96

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 97
<211> 648
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<220>
<221> base_modificada

<222> (603) . . (603)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 97

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatacca acgaacatta ttatacgttc 300

ggccagggga ccaaagtgga aatcaaacgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 360

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 420

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 480

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 540

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 600

canggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 648

<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 98

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 99
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 99

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 100
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 100

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 101
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 101

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115                 120                 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 102
<211> 688
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 102

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Met Phe Ser Ser Phe
            20                  25                  30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Gly Gln Gly Thr Trp Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Val Ser Tyr Pro Pro Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
```

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
                245                 250                 255

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
            260                 265                 270

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
        275                 280                 285

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    290                 295                 300

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
305                 310                 315                 320

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
                325                 330                 335

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        355                 360                 365

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    370                 375                 380

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
385                 390                 395                 400

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                405                 410                 415
```

```
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            420                 425                 430

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        435                 440                 445

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    450                 455                 460

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
465                 470                 475                 480

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                485                 490                 495

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            500                 505                 510

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        515                 520                 525

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    530                 535                 540

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                565                 570                 575

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            580                 585                 590

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    610                 615                 620

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
625                 630                 635                 640

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            660                 665                 670

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        675                 680                 685
```

<210> 103

<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 103

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Met Phe Ser Ser Phe
            20                  25                  30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Gly Gln Gly Thr Trp Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Val Ser Tyr Pro Pro Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
```

```
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
        355                 360                 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 104
<211> 642
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 104

caaggcttga ggtatgaaat aatctgtctc aatgaatatg caaataacct tagatctact 60

gaggtaaata tggatacatc tgggccctga aagcatcatc caacaaccac atcccttctc 120

tacagaagcc tctgagagga aagttcttca ccatggactg gacctggagg gtcttctgct 180

tgctggctgt agctccaggt aaagggccaa ctggttccag ggctgaggaa gggatttttt 240

ccagtttaga ggactgtcat tctctactgt gtcctctccg caggtgctca ctcccaggtg 300

cagctggtgc agtctggggc tgaggtgaag aagcctgggg cctcagtgaa ggtttcctgc 360

aaggcatctg gatacacctt caccagctac tatatgcact gggtgcgaca ggcccctgga 420

caagggcttg agtggatggg aataatcaac cctagtggtg gtagcacaag ctacgcacag 480

aagttccagg gcagagtcac catgaccagg gacacgtcca cgagcacagt ctacatggag 540

ctgagcagcc tgagatctga ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaga cacagtgtga 600

gaaaccacat cctcagagtg tcagaaaccc tgagggagga gt 642

<210> 105
<211> 869
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 105

gcaggattta gggcttggtc tctcagcatc ccacacttgt acagctgatg tggcatctgt 60

gttttctttc tcatcctaga tcaggctttg agctgtgaaa taccctgcct catgcatatg 120

caaataacct gaggtcttct gagataaata tagatatatt ggtgccctga gagcatcaca 180

taacaaccac attcctcctc tgaagaagcc cctgggagca cagctcatca ccatggactg 240

gacctggagg ttcctctttg tggtggcagc agctacaggt aaggggcttc ctagtcctaa 300

ggctgaggaa gggatcctgg tttagttaaa gaggatttta ttcacccctg tgtcctctcc 360

acaggtgtcc agtcccaggt gcagctggtg cagtctgggg ctgaggtgaa gaagcctggg 420

tcctcggtga aggtctcctg caaggcttct ggaggcacct tcagcagcta tgctatcagc 480

tgggtgcgac aggcccctgg acaagggctt gagtggatgg gagggatcat ccctatcttt 540

ggtacagcaa actacgcaca gaagttccag ggcagagtca cgattaccgc ggacaaatcc 600

acgagcacag cctacatgga gctgagcagc ctgagatctg aggacacggc cgtgtattac 660

tgtgcgagag acacagtgtg aaaacccaca tcctgagagt gtcagaaacc ctgagggaga 720

aggcagctgt gccgggctga ggagatgaca ggggttatta ggtttaaggc tgtttacaaa 780

atgggttata tatttgagaa aaaaagaaca gtagaaacaa gtacatactc taattttaag 840

ataaatattc cattcaagag tcgtaatat 869

<210> 106
<211> 502
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> base_modificada

<222> (128) . . (128)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 106

catggagttt gggctgagct ggattttcct tgctgctatt ttaaaaggtg atttatggag 60

aactagagag attaagtgtg agtggacgtg agtgagagaa acagtggata tgtgtggcag 120

tttctganct tagtgtctct gtgtttgcag gtgtccagtg tgaggtgcag ctggtggagt 180

ctgggggagg cttggtaaag cctgggggggt cccttagact ctcctgtgca gcctctggat 240

tcactttcag taacgcctgg atgagctggg tccgccaggc tccagggaag gggctggagt 300

gggttggccg tattaaaagc aaaactgatg gtgggacaac agactacgct gcacccgtga 360

aaggcagatt caccatctca agagatgatt caaaaaacac gctgtatctg caaatgaaca 420

gcctgaaaac cgaggacaca gccgtgtatt actgtaccac agacacagtg aggggaggtc 480

agtgtgagcc cggacacaaa cc 502

<210> 107
<211> 514
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 107

gaactcacca tggagtttgg gctgagctgg ctttttcttg tggctaaaat aaaaggtaat 60

tcatggagaa atagaaaaat tgagtgtgaa tggataagag tgagagaaac agtggatacg 120

tgtggcagtt tctgaccagg gtttcttttt gtttgcaggt gtccagtgtg aggtgcagct 180

gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggggtcc ctgagactct cctgtgcagc 240

ctctggattc acctttagca gctatgccat gagctgggtc cgccaggctc cagggaaggg 300

gctggagtgg gtctcagcta ttagtggtag tggtggtagc acatactacg cagactccgt 360

gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac acgctgtatc tgcaaatgaa 420

cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg aaagacacag tgaggggaag 480

tcattgtgag cccagacaca aacctccctg cagg 514

<210> 108
<211> 200000
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 108

tgttcttgcc tcttcccctg gggtagagtc ctcctgtttt ccccagttgt tccctcccac 60

agctctcaca atctctgttg gtgtccccat cttccagatc tgctgccatg acctgcagat 120

taaggctctg attccataag aaactgaggg gagctgcttc tcaatagatc tttgatgggg 180

acctctgttc ccatatcagt tcatgagggg ctgctccagt gccctaggat gctgattttc 240

atggcttgct cctgcagggt aatatctgag tttcatagtg ggaatcagag agttgggtct 300

ggatgcattt cagaagtgtg ggctctcatt ctctcccaga cagtcacttt gggaaggata 360

gattcttgtg actgtaaagg ttcttcaaga gaatagcaca actcttcagt atgttgtccc 420

ttagaatttc tcactacaac acgcttaaca cactcgactt caagcaatgc aatgtgtatt 480

tgtgctccat cttgtaatgg cctacgttga atacgacaga ctgtgcctca ggtaatttca 540

tatcttgact ttattactct gtacaagaac ttgcctctcc ctagatttca atttttttg 600

ttttaaacct tcagttatct gaagcattta ataaaatttg cgaacttcca tcttttctgt 660

ttatctgtta ttgctgatgt tattgtttta aaaataaata tatatttctc attcatgtac 720

atttttaagc tgagcagcat atttttaagt aaaacctgga ataataaaag aatccaaaca 780

tttttcagct gccccaaaaa aaccaaatta tggtaaatgt gttcactgga acactactca 840

tcacttataa taaatatatt tctggtacac agagcaacaa agaaaaatat ctaagtgttt 900

atgctgagta aaatacgcca gacaaataag aatatgtacc atattactcc atttatgcaa 960

tttcttttaa gtgaaaaaga atctaaagca atatccagaa gatcagtagt tacctggaaa 1020

aagggtagac caaaggaagg ggaaaggagg aaacttacag aagaacaaga gaaaatgttg 1080

aggggagttc acttgtccag cttggaaatg atgggttaca tcatgttgat caattgcaca 1140

ctttaaatat gtgaagtcta ttatctgcca attaacactc gcaaaattta ttgcaagcag 1200

acaaatgaaa aattagacag agagaggatg gtataaagat agaaaatata tattaaatgt 1260

cagaaatgtc tgagaattta actcctgacc ctagttccgt ccttattttt aggtgaatgg 1320

tagcgtgcac caaaatcaca cacattctca gtacaggaag tgggttccac aaagcacacg 1380

aggtatgtcc aattcttacc aagatttggt tcagggagta acagtgatga ggaatcacag 1440

gcccagatac cggggctcac tcatctcaga catgacctcg tggacacaca cttagcccct 1500

cctccatgtg taggttgact tccacatatg taaatggaga aaccattgac tcctacagaa 1560

cataatttac agaaatatac aaaagataaa atagtgcaaa tacttatcac aacaaaattt 1620

cctaataaga cagtgtattt tccaaatacc gtaattgtca cccaactcct gtggggccgt 1680

gtcattttat ctggggtctg ccgtctcctc aggattccca ccccagagct ctctatgtag 1740

taggagacaa gcaaataggg ccctccctct gctgctgaaa atcagccaaa tcctgaccct 1800

gcagctctgg gagaggagcc cccgccccgg gattcccagc tgtctccact tggtcatgaa 1860

cactgaacac agaagacaca ccatggagtc tgggctgagc tggattttcc ttgttgcagt 1920

tttaaaaggt gatttatgga gaatgagaca cactgagtgt gactggacat aagtgagaga 1980

aacagtggat ttgtgtggca gtttctgacc agggtgtctc cgtgtttgca ggtgtccagt 2040

gtgaggtgca gctggtggag tctgggggag gcttagtaaa gactggaggg gtctctgaga 2100

ctctcctgtg cagcctctgg attcaccttc agtagctctg ctatgcactg ggtccaccag 2160

gctccaggaa agggtttgga gtgggtctca gttattagta caagtggtga taccgtactc 2220

tacacagact ctgtgaaggg ctgattcacc atctctagag acaatgccca gaattcactg 2280

tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgac gacatggctg tgtattactg tgtgaaagac 2340

gcagtgagaa gtcagtgtga gcccagacac aaacctcctg cagggtacct gggacaacca 2400

gggaaagcct gggacactgt atactgggct gtccccaggg gcaagtccag gtggtataag 2460

gctgggtttc ctgtcatggt ctagggttgc cttgttagca aattacccca gggaccatct 2520

ctagatttcc aattctgtaa taacatttga tgtcgtctct gactgcacaa tgtcccctca 2580

actttgtatc ttttttttt ttgtaacagg aggacacatc ctcaccctgc agaagcctga 2640

gtgtcacttt gggggcagaa atgacctgcc ttgatcacat tgatcactgt cctgaggaaa 2700

ataccccaca ggggaccccg atgactccag caaaggctct gcctcaaaac cattgaagag 2760

tccttccttt cattagaatt gaccacagca cctgggcttc agcacaagcc ataccacaga 2820

cgtcacaaag cagcagcttg acacctgatc caggtgcatt ttctcacctt tagaagctga 2880

gagaggggtg tactctcaag gtcaacacac tctttgtggg tttttacaca gaaaacctgg 2940

ttttacttta tttcatttga agataaatga acaaatgtgc atctataaat gattgtaatt 3000

ttcacattta ttccaattcc aatatttctg aattctgcat aatgtcctgg cacaaggttg 3060

tgttttctat aggtattttt caacagacca agaaaatgca ttttccaatt tccctgtttt 3120

tcctccatgt gcagagacct tgagtagagc acgtctgact gtgtttgtct gttttcacgc 3180

tgctgatgaa gacataccag agacgaggaa acttacaaca gaaagagttt tattggactt 3240

acagttccac gtggctggaa aggcctcaca atcatggtgg aaggtgaaag gcacatctga 3300

catggcggca gacaagagaa gagagcttgt gctgggtctc ccctttttaa aaccatcaga 3360

tctcatgaga ctcattcact attaagagaa cagtgcagga gagacacaac acccataact 3420

cagtcacctc ccactggtcc ctcccacaac attgagaatt atgggagtta cacataaaaa 3480

tgagatttga gtgaggacac atccgaccca tatcattcca ccgcaggttc cctcccaaat 3540

ctcacgtcct cacatttcaa aaccaatcat gccttcccaa cagctcccca aaggctaaac 3600

tcatttcatc attaacacag aagtccacag tacaacattt cacctgagac aaggcaagtc 3660

ctttccactt ataagcctgt aaattcaaaa gcaagttaca agcattgggt aaacacaccc 3720

attggaaatg acagaaattg cccataacaa aaagacccca tgcaagtcca aaatccagca 3780

gggcagtcaa atcataaagc tccacaatga tcacctgtaa ctccccttct cacatccggg 3840

acatgttgat gcaacaggtg agttcccatg gtcttgggca gctccacccc tgtggctttg 3900

cagggtacag cctccctcct ggctgctttc acaggctggt gttcagtgtc tgtggatttt 3960

ccaggcacaa agtgcaaact gtcagtggat ctaccattcc agggtctgga ggatagcagc 4020

cctcttctca cagctccact aggcagtgcc ccagtaggga ctctgtgtgg gagctcgggc 4080

cctatatttc ctttcctcac tgccgtagca gaggttcccc atgaatgagc caccactgca 4140

gccaacttgt gactggacat ccaggtgttt tcatacacct tctgaaatct aggcagaggt 4200

tctcaaaccc caattcttag cactctttcc ataatggttc atttttttgg cctgttcatt 4260

actggtattt ttcaaaggaa tctcacttga atctttactc ttttgcaatt tgtctccatg 4320

acaatgttgg gaagttttat ctccaccatc ataacatgat ctagtgatct cacacatttg 4380

tggcaaacaa tacctacaaa ttcagaagct ctttgctttt ctttccatga aatataattc 4440

tttctgttct gtgtataagc atatcttagc aaccctgcac acacccacat agatgtccac 4500

aagcctatga attattctct gtaaataaaa acttatatca atttccctca atgttcataa 4560

ttctcctgag tgtgaggaag ctccttctcg atctgttcaa acaaaatgcc cagagaccat 4620

ccggtaggta aggagttcac ctggctctgg tgtggggtct gtctctttcc ctctgttgtc 4680

ccacaggtca gcccagttgt tcaggtccta agaagaaagc ccaggtttgt cctgatttta 4740

aaacacttca aacttctgat gactctcctg ttacccacat ccatggagat agattattta 4800

ttatataatt caccaaacta atgtcaaatg tccaagttgc aataccgcac atcctagggt 4860

atgttcatgc aattcaatgg aggagaaagt ctttcagaga cagatggatc tgaaatgata 4920

aatatgtggg taaggactct ggacttgagt gtcattgtcc agccatgttg cacaagtgtg 4980

tcctgtcagg gaaggatcag agttccttgt gctctcagag ggaaggggtc acagagttcc 5040

tctctggttc ccaggaaagg taatcgcact aatcttcatg atcttcatga gactatcctc 5100

cagtgctgac ctgttataga gtttttgtct gaagttctca ctgcaatccc caatctacat 5160

attttcaatc agaagtgttt agaggccagg acacatcttc aaggtcacac attgagaagg 5220

atgtagatat gtcccactac cttctcctga gatctcagac agaatcccag atttcaaaag 5280

gacacagaag gacagctctc aggtgctttt aaaaaatgac ccacttccag ggacagggag 5340

cttccctata accatggtgg atgttctgaa ctacaataaa cattggatgg atccaggatt 5400

gtttgaagtc actgtcatta ttacattcag ctgctgtttc aatgtgtctg aagtagtaaa 5460

tgacaattta gatgacaatt tatatgaatc ttcaagggta gaacaatatt gaccatattc 5520

caaaatctgt ccttgatcca tgatcacact catctcccag accaggtcct tcagcacgtc 5580

tctttacctg aaagaagagg actctgggct tggagagggg agaccccaag aagacaactg 5640

agttctcaaa gggcacagcc agcatcctac tcccagggcg agcccaaaag actggggcct 5700

ccctcctcct ttttcacctc tccatacaaa ggcaccaccc acatgcaaat cctcacttaa 5760

gcacccacag gaaaccacca cacatttcct taaattcagg ttccagctca catgggaaat 5820

actttctgag agtcctggac ctcctgtgca agaacatgaa acatctgtgg ttcttccttc 5880

tcctggtggc agctcccaga tgtgagtatc tcagggatcc agacatgggg atatgggagg 5940

tgcctctgat cccagggctc actgtgggtc tctctgttca caggggtcct gtcccaggtg 6000

cagctgcagg agtcgggccc aggactggtg aagccttcgg agaccctgtc cctcacctgc 6060

actgtctctg gtggctccat cagtagttac tactggagct ggatccggca gcccccaggg 6120

aagggactgg agtggattgg gtatatctat tacagtggga gcaccaacta caacccctcc 6180

ctcaagagtc gagtcaccat atcagtagac acgtccaaga accagttctc cctgaagctg 6240

agctctgtga ccgctgcgga cacggccgtg tattactgtg cgagagacac agtgagggga 6300

ggtgagtgtg agcccagaca aaaacctccg tgcagggagg cggaggggac cggcgcaggt 6360

gctgctcagc gccagcaggg ggcgcgcggg gcccacagag caggaggccc ggtcaggagc 6420

aggtgcaggg agggcggggc ttcctcatct gctcagtggt ctccctcctc gccagcacct 6480

cagctgtccc caggggtcct ctttctttat tatctgtggt tctgcttcct cacattcttg 6540

tgccaagaaa gaaatgagga agacaaattt tcgtctgtag ttgaagtttc accaattact 6600

aggaactttc ctagaagttc ctgcatggcc cattatagct tacagattaa atatatatca 6660

agcttctcat ctcttgattt gtgtcatcaa ctgaattgtg ccctctttga aattcatatg 6720

cagaaacctt aaattcaatt gatgtatatt ggaattttaa tgaaataatt aaggttaaat 6780

gtggtcataa gtgtaagact ctaattcaac agacgtgtcg tctttataag aagaggaaga 6840

gacaccagag acctctcact tttcacgtgc aggcagagaa gaggccatgt ggagacgtaa 6900

tgcactagaa ggtggcccag tgcaagccag gaagaagcct caccaagaac caaccctgcc 6960

agaacattga tcttcaacat tcagactgca gaattttaag aaaatcaata tttgttgttt 7020

aagccaccca ctcctgttgt cttcttatga agatccagac agactaatac cacataactc 7080

tgttagcgct gtcccctgga tgcagaatca gcccgctggg gctgggcaca tctctcagat 7140

ttccacataa agtaggcaaa aaatagtagt tctgatataa aaatttgtca tgtccctgtt 7200

ggccaatttc tgggcaaggt cttttaaaga agccctgggg gctttgtcac aaaagttgcc 7260

ttttatcatt tattaggaca taactgatga acaatgagta ccagttggat ggagactgac 7320

cactgaccat cttctgctgt ctcctaagta tgccacagaa aaccacacca acattactct 7380

atgtcttcaa ctttctaaat ttgcactgat tggtatttaa ggcaggccca gcgttgaata 7440

actcctttag tttttgcttc tctgggaaag gtcttatcta tcctggcctt ggtcttcaag 7500

tttcagcaat tctgggaagc caaggacgcc tctatctcct cctccatgct ctgcaactca 7560

cctgagaaca gctttctcat tggaatgtct tctgtttaag gaataagagt ccctgtttca 7620

ggcttgggtg cctgagtaca cctactggat ccagcccagg attggagaaa ctttccagaa 7680

cacatcacct gagaaatgac cagtcacact gttacacttt cacaatttcc gcttcctcat 7740

gagaaaatta aaattgcaga gacttttca taagcgttgt gccatgtcct ttcttgtttt 7800

cttgcctgtt catttatgtc agaccaggtg ccacatctat gtaatcaggt tagaatcctg 7860

cctccagtaa cacatgaaaa ggacctatgg ttgtactttt ggtctttgct ccaaagtgta 7920

aagattacaa aagtcatcac cctcattctt atgccaagag tcatctgcac aatctgatct 7980

tcaatacatt ttagaatcca tcaaatgaat gaaattccat tttttaaatt accaccccaa 8040

aaactagaga gatgggcatg tccagaatag cagttgatgg ttgcttaact ggaagagaag 8100

tttcagaagc cacaagctgt tgaaggcact tacgtggtta gcactataga cgtctgcaag 8160

acagatgtgg actagggtga aatgacagtt ccagagggcc gcactctcct cagtcttctg 8220

gaatttccct ctagaaatct ccagaatcta aaaaatacaa tccaaatatg tttcctatgg 8280

gtcataactg gggaagttta attactgaaa aatataccag gagccttctc caaaagatcc 8340

tacagggaag aacttttcca gaacctcata ctatgtgaag ggaagaaaaa tctgcccatt 8400

ccagatccct ccccacttcc tccattatta tacaaatgag taaggttagc caatagggta 8460

agatgtaagc aaatagtcca gggaaactga agccacaaaa aggagtaaag atgaaaattc 8520

agcttttccc ctggagatgc ctggtcaagg tcacagccca gaaaaggaat ctgattgagt 8580

ctctaggttt ccatggtcag aacaagcagt gctgacccgc actgcacaat cctttctaac 8640

caggatgatg gctctggatt aaatatgaga gtgtgccaat gcacagtctc tgaggagaac 8700

atagggacac taaaaaagca atggcaggga gttagacaag gacagtagag caatatgaag 8760

cctctgacgt gaacattttt aaaaacaaga tcttggaaac tccctcattc acctcagctt 8820

cttttatcat gaagactttc caagattctt aactgagaca aagaaaataa caacctgcat 8880

gcacttccga agtctccgct tgtatcctgt ttgctttaga tctctaggag aaaaatgtca 8940

gacacctggg cctagtgtca atgtgggagg cactttctac agatgaggcg caagaaggaa 9000

gggaaaacgt gtgttattgg aatagtggat atgaagtgtg ctctcatctg aaagcatctg 9060

cacctgctgg aaatctcaga tgcaacattc aactgcaaga accaaggcac acccaaatct 9120

cctgtaagat tttggattca ttatccactg attcagtgca actggagctt cagagaaggg 9180

gctccctcct gtgtcatagc atccttgctt tgagttcatt agatttagta aggctaatca 9240

attgtttgaa gagatggtgt cagcagcgta tgctgtcact gaaggagtat tctaaaccag 9300

gacaaagcca tttcatgtta ggcgagggaa gctggcggaa aatgctttat gagccccaca 9360

ggaacttcct tgcaaggcaa gggctgggct ggaggggggcg cgcaggaacc gcccagcaca 9420

ggttccatcc ccggaggggt gcacaggagg ctggggacga ggttccctct cagcgcctgt 9480

gtcttccttt ggcaacaaaa aaaatcctaa gtgttcaaga agttgctgat gtgtctttaa 9540

gtatcctgtt ccgtcagagc ctttcctata actgaaggca accagaactg tgttttaaag 9600

tcggttccga ggactgcaag tatcttaata gtgaggatat aaaggatagg aatggtttta 9660

ctaattgaaa ggatacagaa ttgtggggtt ccgaggactg caagtatctt aatagtgagg 9720

atataaagga taggaatggt ttcactaatt gaaaggatac agaattgtgg gagtcactat 9780

gttcctatga ataaaaaatt cagatttcag tgttaagtaa tgttgcctac attgtgtgag 9840

tgacagggca gtggtggatc tgagagtgtg gcaggtgcac agacctagtg agtcagaaat 9900

caatatggaa agatgaggat ctatggatat gaactgaaag taagtaaaca gttcatgaaa 9960

ttctattaaa tggagtagga aataaaaccc aaacttatcc aaaacacaaa ttccttggcg 10020

attattttgg gagcagtgag ttcatcagga accccaaact tctcttacgt cttctgattc 10080

ctgttgtcca tgagatgaga aattcagctc taattgtgca tcacagggca aatctgtaaa 10140

ccaggagtgt ttctattgag gatcatggtg gatcaggatt ccaggcaggt gctggagaca 10200

ctgtctcagg agcgcccaga tgatctcagg gggacctgct ggacactcac gtggaacatc 10260

agcagtcact ttctcagagt aaccagtgag ctgtgctggt gcctgatggg actaggatgg 10320

ggtcaaggca ccttctcagt gtcatggaga gtgattgttc cagaaatcat ccaggtggtc 10380

tctacgctaa tcaaatatgg gttcacaggg aggaacatgt gctctgggtg cttggtcttc 10440

agtgaaagga cgtctggcca ccaaaagttt gtaaatggag cagggcatgc atttcctcaa 10500

ggaggattag ggcttggagc atcagcatcc cactcttgta aggctgatgt gtcatttacc 10560

ttccctttct tatcccaaat cagggtcttc agctatgaaa tgctctgact catgaatatg 10620

caaataacct gagatgcact gaggtaaata tggatatttg tcagccctga gagcatcatc 10680

cagaaaccac atccctccgc tagagaagcc cctgacggca cagttcctca ctatggactg 10740

gatttggagg gtcctcttct tggtgggagc agcgacaggc aaggagatgc caagtcccag 10800

tgatgaggag gggattgagt ccagtcaagg tggctttcat ccactcctgt gttctctcca 10860

caggtgccca ctcccaaatg cagctggtgc agtctgggcc tgaggtgaag aagcctggga 10920

cctcagtgaa ggtctcctgc aaggcttctg gattcacctt tactagctct gctatgcagt 10980

gggtgcgaca ggctcgtgga caacgccttg agtggatagg atggatcgtc gttggcagtg 11040

gtaacacaaa ctacgcacag aagttccagg aaagagtcac cattaccagg gacatgtcca 11100

caagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatccga ggacacggcc gtgtattact 11160

gtgcggcaga cacagtgtga aaacccacat cctgagagtg tcagaaacgc caggaaggag 11220

gcagctgtac tggcatggag gggatgacaa aggttattag attgaagatt ttcttagaaa 11280

acgacttcaa gtcattaaag aagaggaaca acataaatgt gtatttgtga aattttaatt 11340

gagagatttt tcatacaaca tttattctgt aagctatttc agggattgga atatgaatca 11400

aattaataaa gctgatatag acatcctctg aaggcatctt cgtaaacatc aatttctgaa 11460

tcagtgttgt aaatattttg gaacacagac acaagatcac atttttactc tacttttatc 11520

tctattttta aaaaatgcca aaaagaatct tattttgtgc atgccccatt ttgaattccc 11580

accgtcaatg catgatagtt cttggttttc ctcattcaag ttgtcatttg tcattaagag 11640

tgttgtgtgt tttaaccatt ctaataggtg agtaacggta tctaattttt atttaaatgc 11700

acatgtccct aaaaaattca tatttaacaa tttttatata atttttggtg agatgcctct 11760

cgtgatattt ggttcatttt ttaaatgcat tttttatcag ttgtaagtat gcttgcatat 11820

tgattataaa agtcatttaa caaattaaaa taattcattt aacaaatatg catcttggaa 11880

ttttttttctc caagtctgca gttgtctttt actcccttat ccctgtgtat tgcagaaaaa 11940

tgtttgtgtg tgtgtgtgcc tgtgtatgta caaatttaga ttttaaaaat gtacattttt 12000

attcatttaa agatcatgtc tttggcagta tatctgaaat ctcattgtaa aagacacaat 12060

agtcattatt ttttccatgt ctctaatctt aggacacaat caactcatga gtgtttaacc 12120

ttccctacct gattggagga ctatccacct gagacatttg gaatacttct gtaaggagat 12180

gtgtccttcc cattatttct ttatttagtc atctattgat gttcctattg gtttatggat 12240

gtctatttca tactccgaag aagatccttg ttacattact tgttttattg ttcaaaacac 12300

cacagcttta ttaggtgctg ggagctcatt tagtttggat cctgcatcct tacagcacac 12360

ctcatctttt tgtttttaga catttccctg tttccaagta ttacaataaa ttctaagctt 12420

gttctctacg ttacctttt tgtacataga atcagccatt tttctaaaga ctgctcgttt 12480

ttcatgttaa agaacagtat tgaaatttaa aaatgtgatc ctgggtatgt gtgttgttaa 12540

tgtggtatca gtacttcttc taggatatct ccaccaattg gcctagtaaa tgggcatgtt 12600

tataggaacc caagtttatg gacacatcga aactatttat gtatctaatc ctctgtaatg 12660

tgattacatt aaaaatgaga acacactggt gtctccatcc aactatgcta ccatatggat 12720

gtttccagcc ttccttccct cactgtccat aaccacccac tgcaaagtga ggaaccccat 12780

cccaccatat gccatttttat tacttagctg cacaatttca ggacacatgc atagcagtat 12840

cagaaatgta aagctcgttg gaaacatgtt tatctactag aacagactgc ttatgtgcag 12900

tttctttaca ctgtaaactt atagaatttc ttcattttca aagttgctta ggtcagcaac 12960

ttcattttcc actctcctca gtgaagtcat ttcaatgaca atgtataatg tcatttattt 13020

gaaattcttt caaagccaaa actatagtcc ggtaaacata tagaggatat tcaaggaatt 13080

tagagagtgg gtataaaata agtaaaaatg gcactgttta agaagagtaa aattgttttt 13140

agtgatatac aatggttgag acacaacaca attaatttgg ctaagctcat acttttgtga 13200

cagaaaatat aaacctaaat atatacaatt tttgtaaaaa aactttagca gttcattaac 13260

cccagggtta aacaagactg tgtaaaatta tctaataact tatttgatga gggtggggat 13320

atcatgagac atatgcaaca aagaatgaag gcattttcct catttgcatg taagatgtta 13380

ccattcacta aagaccttta ataaaaaaaa atttctacgt gatccagtat ttttttcctt 13440

ctgtcaagca aataactcat aggattcttt tctttccttg gttgagaaag attttcctac 13500

aagcttcagc acacgtcagg catacactgt ccctgaatgg gcatttaccc tcagatgggt 13560

acacacacct gtcaacatgg gggctcttct gtcagacaaa cacaccttta ctcatgtgga 13620

ttcttccctc agacaaacac acatgtcccc acgtggactc tttcctcaga ttacaacatt 13680

tgtccttaca tttactattt cctcagaaaa cagacattgc atcatgtggt ctcttgtctc 13740

agacaagcaa acatgtcttc agtcagataa gtctgtggat ttccacattg actgtttcct 13800

tacacaagca cctatatcca atatttaact gttttgtgag aaatttatcc cttttctctg 13860

gaaatgtatt tttatgttct tactggacat atttttttaat aatgtttggt actatgaaga 13920

tacccgaaca ctgtccatac gagagaataa gaaagagtaa taagcagatt aaccctgtgc 13980

atccagaccc aggagtcctt tgatcctgcc cttccgaaat ggagacacag aggaaggatg 14040

agcaatgctg agcagtgcac ccatgaccac aaaaggaaag acatggcaat gtgtcccctc 14100

ccctcctcat gaaaggcagc tcatcccctg ttccttcagg ccctggtgag gagccacccc 14160

atgtatattc ccttgatcag tgtccacacc atggggtctg cactgatctg ggcttccctt 14220

ctcatcaccc tcaatattag tgtcccttgt gaatcaggtc cagctgcggc tgttccacat 14280

ggggccgttc ttccatttcc tcagtgtttg cagaagtcct gtgtgaagtt tattgatgga 14340

gtcagaggca gaaaattgta cagcccagtg gttcactgag actctcctgc aaagcctctg 14400

atttcacctt tactggctac agcatgagct tggtccagca ggcttcatga cagggattgg 14460

tgtgggtgga aacagtgagt gatcaagtgg gagttctcag agttactctc catgagtaca 14520

aataaattaa cagtcccaag cgacaccttt tcatgtgcag tctaccttac aatgaccaac 14580

ctgaaagcca aggacaaggc tgtgtattac tgtgagggac acaggagagg gaatatctgt 14640

gtgagcccag acacaaaaat ctctgcagag agacaggagg gaactgcatg gtagatgctc 14700

ctcataacca caaaggggca gtcaggacca tcaggaggag ctcaggacac ctgggggtgc 14760

tcagaaccat gaggggtgct caggacatcg ggggctctca gaaccatgag gggtgctcag 14820

gacatcaggg ggctctcaga accaccaggg ggcgctcagg acacctgggg gcgctcagaa 14880

gcatcagggg tgctcaggat atcagagtgc cctcagtacc acgaggggggc gctcatgaca 14940

ccaggggcac tcagaaccac cagggggggc tcagtacacg ggggttctct taggaagcag 15000

ctccacatca ggagcctgag aggctgtgat tgcgttttaa acctgggtga ttcccgacct 15060

ggtcaagaaa aagtctcccc caggatctct caccatttct tcttggtaat tccatgattt 15120

ttttttacct acaaaacatt aagttagaac agggatttaa ttcaactttt aattctgcag 15180

attttccgag taatagtagc aatgttccct caggacaatt tttaaaattg gctatttata 15240

tattttattt atgtaaaatg atactatctt gaaaatagta aaatttttaa aatcatacct 15300

ctaatcccag cactttagga ggttcgggca ggcagatcag ttgcgctcag gagttttaga 15360

acagcctggc aacacattta gatcttttcc atacaaaaag aaaaagaaaa agaaaatagc 15420

taggtgtggt gctacctctg gtaccagcta tttgaaagtc tgaggtggga ggatccctta 15480

agcctgggag gttgatgctg cagtgagctg tgattgtgcc actacactcc ggcctggttg 15540

acagagtgag acccttttctt aaaaatacaa actgtttcaa taagtagagc tttgtgtctt 15600

tgtgctgtaa taatcagttg tatatatttt ctaactgtaa ctcagcatat gcatggtgtt 15660

ctgtttcttt ttctttcatt tgctgttggt ggaaattaaa cacctcttta aacgctcttg 15720

ttctcccctt tggttcgctt cgggtgtcct gtttaacaga ctatttcttc atcttccctt 15780

tttctttgaa agtctttttc tttctcagtt tccatgcagg ataaagaaag tcccttttact 15840

ttctgtcctc caagtctggt gaacagctcc cttctcttca taaccactga agccaaccaa 15900

gtttaggagg ataacagctc tccttagaat atgctcgtct acctggagac tctctgccct 15960

cctcaccctt ttctagggtc ctgcacacat cacactcatc ccatcccctc ccttccctaa 16020

gtaccacaga gtgggctctg cagttcctgc ttccctgtgt gtgctcagcc ctggggctca 16080

ctagtgcttt gatgatgacg ttcaaatccc catgtgctta gactctctaa gaccaccctc 16140

taggaagatg ccattgtgag tgagtcctgg aaatcatggg ctgtgttcag tttcatattg 16200

ctggatcttc tctattttaa aggaatactg gcaattaaga ttagagtttg tattgaatat 16260

tcatgccaaa aaagttttct ttcaaaactt ttcaaataaa acaatttttc ctgcctagtt 16320

tgaaaactac aatgtaaatt caacaaataa tataatacaa ttttaaaggt gacgtttgtc 16380

ttattggtta ttcaatttat taaaaacaga agatatttaa aataaattcc attgcacatt 16440

taagtgatgt atttgacaag aatggcattt acatacattt ttaccaaaac acgtatttaa 16500

atatatttgt ctttttaata ttggtagagg cagacataca cgtagaaaag catcattttg 16560

tactacaatc tcaaactgta aacacaattt aaattcagtt aaataattag aataatatga 16620

aacaggccgg gcgtggtggc tcatgcctgt aatcccagca ctttgggagg ccgaggcggg 16680

cggatcacga ggtcaggaga tcaagaccat tctggctaaa acggtgaaac cccgtctcta 16740

ctaaaaatac aaaaaattag ccgggcgcag tggcgggcgc ctgtagtccc agctacttgg 16800

gaggctgagg caggagaatg gcgtgaaccc gggaggcgga gcttgcagtg agccgagatc 16860

ccgccactgc actccagcct gggcgacaga gcgagactcc gtctcaaaaa aaaaaaaaaa 16920

aaaaaaaatg aaacaaatag gtgcgttgtt ttggtgttta gatatacatt cacttttgca 16980

tgggcacatg tatgtgtctt tgctgggctg ttgtgtatgt atgtgtgctt gtatgaccat 17040

caagttttca aatacatcat taaatttcat agttacattc gtcttggcca ggcacggagg 17100

ctcaggcctg taatcccagc attttgggag gcttaggcaa gcagatgact tggagttaag 17160

agttcaagac cagccttgtc aacatgccaa aaccccatct ctacgaaaaa tacaaaaatt 17220

agccaggtgt tgtggcacgt gcctttagtc ccagtgcgac agggaaatgc tgggtcagaa 17280

atcccacaca aagtctctac ttggttacca cctaatggaa ctgtaggaag aaagccacca 17340

tccttcagaa cccagaatgg tagatccact gacagcttgc acagtgtgcc tggaagagcc 17400

agaaacactc agtgacagcc catgagtgta gccagaaggg agattgtgcc ctgcaaagcc 17460

acaagggcag aactgtccaa gaccatggga acccaccagt tgcatccggt aacctggatt 17520

tgagacatgg agtcaaagaa gactattttg gaacgttaag atttgactgc ccagctggat 17580

ttcagacttg cacgtggcct gcagtttgga ccaatttctc ccatttgcaa tggctgtatt 17640

tacacaatgc ctgaaccccc attgtaccta ggaagtaact tgcttgtttt ttattttaca 17700

ggctcataga tggaagggag ttgccttgtc tcagaaaaga ccatgggctg tggacttttg 17760

agttggggct caaatgagtt aagacttcag gggcctgttg gaaagtcatg aatggttttg 17820

aaacgtaagg acattagatt taagaggcgc cagtgttgga atcatatggt ttggctgtgt 17880

ccctgcacaa atctcatctt gaattgtatc tcccacaatt cccacgtgtc gtgggagaaa 17940

cccagtggga ggtgattaaa tcatggaggg agttcttctt tgtgcgttat tgtgatagtg 18000

gatgactctc atgagatctg atggttttaa aaaacgggag ttccctgccc tctctttgtc 18060

tgctgccatc tccatgtaag ataaaacttg ctcctccttg ccttccacca tgatgtggag 18120

gcctcccaag ccatgtgtaa ctgtaagtcc attaaacttt ttcctctata aattactcag 18180

tctcatgtat gtctttatta gcagtgtgaa aacagactaa tacagcaaat atcaatctct 18240

taaaatattt tgttgttctg catgtaatat agcacagtct aatatgggag gtaaaataaa 18300

tcatccatgg accttcagat ataagtcata gggtaattat gcctgtgtcc ctgaaggagt 18360

gaactagagg ttatacacac tagtggcact acctttggca aagggtgttc aggggtttct 18420

gaaagttctg ataattttaa ttttaaaatt gaatttacta tgtatttctt catcaacctt 18480

tccagaagat ttttggcagt aagaacagcc tagtattgga gtaatactga tgaattagag 18540

agttatttttg taattattct cctgagattt gcatgaatca attgatatag aagttcgtat 18600

gtcccaagtt gaaacatcag aatcaagaag gcttcatcac ccttaatggc tgtggttttt 18660

ggcaaggcag tacttcaatt cagccagaaa gagagacaac aataaaactt tcaaatgcag 18720

gggagtctga cctcagtctc tctctcttat aaaggcaaag gcaaagctgt gccacatcaa 18780

gatttttctt caagccttca gagtcaacat tgggaatgga aaagccaatc actttgtcct 18840

tagagaaggc gaagatctga gaggaatgca gagttgtgtt catgaaggtg atgacattgt 18900

tatttcttct cctttgccca gtgactgctt tcaagttgag tgtttcagat gtcagacctg 18960

acttataggg atggttgtga ctgcacgtgt ctgacagggg ctgagactct atatctctaa 19020

gtgtcctgtc ctaggagcag ctacaggagt cagccctaga ctggaagtgc cctcactgac 19080

cctctgcctc acctgtgcag cctctggcca gttgaagaaa gttttatccc tggaacatct 19140

tttgtcaaaa ccactccaac tagtattcat gacctatggt ccacaccctc aagtacacag 19200

acatgatcat gctatgactt ggtgtctaga agatccctgc acttttaatt ttacctctaa 19260

tattagactc cactttatca catgcggaca cagcagaata ttttaagact ttcatatgtt 19320

atgctgaaaa attcaatagt tcataaaagt ctacttccca tcactgccag tgtttactac 19380

tgagtaagga tctgccatcc cctagggagg aactataatg gatggtgtgc cctgttagtg 19440

gttatgggaa tgaatccatc ttgtggcaaa tggcagcatc ttcttgtttt gcaagattaa 19500

atagttttct atggtgtata aatacaacat tgtctttatc catttgtcta tctactgaca 19560

ctcagattgt ttccatatat tggctaagat taatagtgtt tcaataaaca taggattcaa 19620

ctatcttaac aaggtggtaa tttcatctgc tttgggtata tttctaaaag cagaatttct 19680

ggtcatataa catttccagt tttaattcat ttggtgcctt tatattgctt tccataattg 19740

tgaaaatata gagtggtata gccattatga aaaacagttt cagttttgag gtatgatcca 19800

taaacaaata atgtttgatt atggctctcc atgagaattt ctaataaata tgatagaagt 19860

caagaaagcg tctcacatta aagcaaggat taattttatc ccttactccc tcaaaagcaa 19920

aagattggaa gcatgcatga tggaggctgt tagcagggtt cagaatgata tcataaaagg 19980

aaactcagtt ggataaaaat gttgggcttt cagtcatagg tatgtcgata ctcaatatga 20040

aaccgcgaag tcaaatgagg atctagaatg tgttcacttg aaccaacagc acattctcag 20100

acgcacctat tgctgcatca caagggtgat gaacttttga aacaagtaaa gtgtgagtgc 20160

acagtaagtg ataaagttat caccttaca tgaagtttgt tcaatatgcc aaaggcttgt 20220

acagattaat catacacaaa tatacacaat gtatttttgc atacacagat gtctagagga 20280

tgattctttt agggaaaatt cttcaggtca cagaaatctg tgtaagttgg aggtcccatg 20340

aaaaagtatc tctttataaa tactggtcta ttgctcaatt agggaaaatg atctctgttg 20400

gagaaagctt ccaatttggg agatttcttc attgcttctt gagttgtaag acatgaacca 20460

aaaaattgac tggagttttt tggagtttca tggctggagt ttcatggctg tgttgttaaa 20520

aatttcttat acggtttctt tcaattattt gagatcagtt tttctgattt ttttctccag 20580

tagataaatt ttcacaagat ctcaggaaac catgtctctg gtgctttagt ttgaaaaact 20640

aacttcctag gtaaagaagc ttctgtctaa ccatgatgag ctcatttctt ctgcatacca 20700

tgaagtttga gaccccattg tccagaatca tgaaaatttt acactccagt ttactgaaaa 20760

tcttgacttt gaatttaata ttgattggca ttgacaaaaa tggttcattc ttggatgtgt 20820

cctaagttgc tcacccaaca tatcagtgga ctgagaatct tccattagct ccctctgtcc 20880

atagcactga gtctattgac aatctttgca gtcctctatg aaggagagtc ctgaggttca 20940

tcagattctt gtagacactc agatgaacca aaggaattaa cggaattgag gactgccagc 21000

catttccaca acactaggaa taattaccat ctaagtgtaa aggtctacat cattcagaat 21060

accctgcatg acaggctgat gcaaaaaaaa atccaaccct gcagaggctt cacagcaacc 21120

ctcacagttc cttcagggaa gaaataatct ccaagttcag tgagtcagta aagctgttct 21180

gagctacagt aaacattgga ttgggcccag ttttgtctga gttcaatgtg attgttatac 21240

tcagctgctg atcctatatg gactgagtat ggataattta aatgagcctg gctgcgtggt 21300

ttgttatatg aaaacctgaa ctaaatataa ataaagggca tgtctggact agcatgaggg 21360

tgagagattc tgggagctcc acccccctta ctcttattgc cctttcctcc aggaacctcc 21420

aggtcctcag ggtgagaatc cacacagatc ccttcatggc tctattgcca ggagaccaaa 21480

tctctgataa aatcactcag accttcttca gacagacaac ccagggaaag ggcattttta 21540

caccttatg tatgtgggga aaggtaatcc atacccatta gaagcccctg ccagcagcct 21600

aactttatca tgaaaatggg taaaattagc caataggggt acatttaaga aaattttcct 21660

gtgatgttcc atccagaaaa gagcaaaaat cagcttcaca cctggagact tcctgtatcg 21720

ggcacagctc agagaaagaa gatcaccaca gaattaaaat gcaactgtaa gaacatgtaa 21780

tgcttccgtg ttccacacat tatgtctcac cagtttagtc aatatggatt aaatatgaga 21840

gcgtggcaat gcacaaactc tatctgagga ggaaagtcag agaaaaaatg ttaaagaaaa 21900

tatggcaatt tgaagcctct gacaccagca acttcagcac caaggaaatg atttcaccct 21960

cattggcctc aaatttactt ttcatggagc attttcaggg ttccaaagtg agaccaggtg 22020

aattcaatgt gcatgcactt ctcaggtgtc cacgtgtatt ttgtttattt tatttctatt 22080

tgcagaaagt aaacacatat tcagccttag tgtcagtgta gggagtgctt tccatgacat 22140

gaataccaga aaaaaaggaa aaacatgggg ccaattaatg taaaaattag ccactgtgtg 22200

tgtgtgtgtg tgtgtgtgta ggtgtgattt gaatactaga gttggagtgg gcttctatcc 22260

acatgcacct gcacctgcag gtagtctcag gtgcaataat caactgcctg accctaaagg 22320

aaacaagaat ctccccaaac ccctgaagag tgtttgggtt taccgtgtgt ccagtgattc 22380

agtgcctcta gagctccagg aaggggctcc cccggtgatg cctgagatct tttcttcagg 22440

tctcccctgc agagttcctc tgggtttcct aagggcaatt cactatttca aaagatggtg 22500

tgagaagcac atgctgtcac taaaggagaa ttctgagcca cggcacagcc actttatact 22560

gggctagaga cactggtatg aatatactct gtaagtttag acagaaagcc tcgtgcatgg 22620

taggggctgg gctgcagggg gtgctcagga taaacgcagc acagtctccc gccccagagc 22680

aggtgcacag gaggctgggg aggggttcct ctcagggcct gggacttcct ttgaaaatat 22740

ctaaaataag tatttcacaa gggctgctgt tgtttgtata aatatcctat tcaattgtga 22800

gcatttatca aactggatgt tgtaatgaca accactttta caatggggat ttcaaactcc 22860

cctagatatc ttaatagtaa gcagctggag gtcaagaaga gatcctttct tttaaataag 22920

tgcaattttt ggagaaacat actcattccc aaaataacgc attcacatat taaggtctag 22980

aaatggctca agttgtccct ggtgcattcg aatgtgggtt caaagtgagg tgcgtgtcct 23040

gagggagctt gttctccagt ggaggaagct ctgtcaacac agagttcagg gatgtgtagg 23100

ggtcgtatcg cctctaacag gattacggct tgaaccctca gcatgtacaa ttgtgtcgtc 23160

catctgtcat gtatttgctc tatctcatcc tggctcagga attgggctat tcaatagcat 23220

ccttcgtgaa tatgcaaatc actaaggtta atacagatat ctctgtgccg tgagagcatc 23280

acccaacaac cacacccctc cttgggagaa tcccctagat cacagctcct caccatggac 23340

tggacctgga gcatcctctt cttggtggca gcagcaacag gtaagggact ccccagtccc 23400

agggctgagg gagaaaccag gccagtcatg tgagacttca cccactgctg tctcctctcc 23460

acaggtgccc actcccgagt gcagctggtg cagtctgggc ctgaggtgaa gcagcctggg 23520

gcctcggcga aggtctcctg caaggtgtct ggttaaactg tcatcaccta tggtatgaat 23580

tggatacgac agaccccagg acaggggctt gagtggatgg gatggatcat cctaccctgg 23640

tgaacccaat gtatgcccac agattcacac acggtttgtc ttctccatgg acacctctgt 23700

cagcacggcg gatctgcaga ctagctgcct aaagactgag gatgcagcca tttattactg 23760

tgtgaggtac accgtgtgga aacccacatc ccgagagttt tagaaaccct gaggaaggag 23820

gcagctgtga tgagctgagg cagtggtgca gcatgtctct aaacttccat tttatctaag 23880

tttgcattga gttccgcttt aatattagcc aggaatgtgg gatagacggg tgctcctaag 23940

aggtccttaa tttgcccatt ttgatgggtt ttccagaaga cgtgagaagc cactttgtta 24000

acaaagcatc ccaaagccat gccctgctcc agaaacacgt gtacccattt cctggtcttt 24060

ggttaactga caagctctca tcagcgcacc tgggctaatt tctcatcagg tagaaaaatg 24120

tgttgtaaag caaggctaac gttgtgatag caattcctgc tcaataacct tcagcatcgt 24180

tgttgttgtg ttctatcaac taattacgtg acttcaaggt tctcattggg agtgtcttat 24240

aaatttaagg gatatataga agttccccta attaaaataa aacaattgtg agcacaacct 24300

cagtgttcaa ccatgtctcc acccttccca ccattcaccc caaagaaatg ttcacctctc 24360

ctggaagtcg ggttcatttt caaattagtt atttttttatt ttactatatc aagattattg 24420

tatgtgacta ctgtagcaga aagtgaatta tgggaacttg aagtaaccaa cgaaagataa 24480

attcagaact aattaaacaa gatgtcagaa cgtgattggc tctagtcttt taaaattcag 24540

caggttatgt aaccaggctt taaatttaca catcttcctg ttaccttcac ggcacagtca 24600

actcccatta tgtaagaaat ggcaactgca ttcccaagcg tcatccaaaa ttgtaaaaat 24660

agactgggtg aggtgaggag ttgattgttt aaattccgct ctgaagaagc agcatcaact 24720

caacaaacca ccgcttttcc ctcagtgact agagctatgt cgcaggccac atggacctaa 24780

atatccttga tagagataat aggactacat aaattgggct gatcattttt atgctgtaaa 24840

attaataggt gagtctgcac tccagcctgg gcaacaaaac aagtcttgcc tgtaaataca 24900

aaagaaagat aaattaatag gtactgactt tgacatttcg gataataata ttttcataaa 24960

ccgaatttaa ttatacccac attgttacct acaccttcac tgaaaagttc ctagttatca 25020

tgagttccat caacactcca cgtgttcaaa tctggacatc caagagagtc tggagaataa 25080

aatgcaatga gggcagtgaa acttgcatat attcagcacc tcttaactca ggaggactca 25140

atacaccctg gaacactctg cttttctgaa tggctcacaa tgactccagc tcactctcca 25200

acctcctcaa acatctggct tctgtttgcc ctaagttcac gctctgctct tagtctgtgc 25260

tctgaagtct ttgcaaaggt gaaaatgagc tgtcagatgg aacttccttc tcacctcagc 25320

atggaattta ctgtttcatt taatgaccac tctttccata atggttgatt tctttcagcc 25380

tgttcattac tggtgatttt caagggaatc tctattgaat ttttacattt ttgcattttt 25440

gtctcggtga caatgttgag aagtttttac ctctagcatc ataacatgat ctagtgacct 25500

gacacatttg tggcaagcaa tacctacaaa ttcagaagtt ctttggttac tttccacaaa 25560

atataattat ttctggtctg tgtatgagca tatcctagca accttgtact ccacacaggt 25620

agatgtctac aagcctatga attaatctct gtaaataaaa atttatctca atttctttca 25680

atgttcataa ttcttctgag gatgaggaag atctttctgg atctattcag acaataggcc 25740

cagagaccac ctggtatgta aggagctcac ctggctcacc tggttccccc tgttgtctca 25800

cataaggtca agcccacttg ttcaggtcct aagaagagag ctcagtttta tctgatttta 25860

caacactccc aatttctgct gactctcctg ttacccacat ccatggagat acattattta 25920

ttatacaatt aaccaaagta atgtcaaagg cccaatgtgc aatattgcac atcctagggt 25980

atgttcatgc aattgaatcg aggagaaagt ctttcagaga cagatggatc tgaactggta 26040

aatatgtgtg taaggactct gggcttaagt gtcattgtcc agccatgttt cacaggtgtg 26100

acctgtcagg gaagaaccag agttccttgt gttctcagag gggaggggtc ccagaagtcc 26160

tctctggttc ccaggaaagg taattgcatt aatcttggtg atgagactat catccagtga 26220

tgatgtacta tagagtttat gtttgaagtt gacactctat cgcaatctac atcttttcac 26280

acagaagtgt ttagaggtca ggccacatct tcaggatccc acattgagaa ggacagagat 26340

atattccact accttctcct gagatctcag gcagaaaccc aaatttcaaa aggtctcaga 26400

agggcagctc tcaggggcta tttaaaaata acccacttcg tgggacaggg agcatccttc 26460

taaccatgat ggatgttctg aactacaata aacattgcat ggaaccaggg tctgaattca 26520

ctgtgattat tacactccac tgctgtttca atgtgtctga aggggtaaat gacaatttag 26580

atgacctggg tgtgtggttt gttttacata aatcttcaag gatagaacag cattgaacct 26640

attccaaaat ctgtccctga tccaagatca cactgatctc ccagagcagc atcttcagca 26700

catttcccta cctggaagaa gaggactatg ggcttggtaa ggggaggcca caggaagaga 26760

actgagttct cagagggcac agccagcttc ctactcccag ggcaagccca aaagactggg 26820

gcctccctcc tccctttca cctgtccata caaagtcacc gcccacatgc aaatcctcac 26880

ttaggcacct acaggaaacc agcacacatt tccttaaatt tgggatccag ctcacatggg 26940

aaatactttc tgagactcat gggcctcctg cacaagaaca tgaaacacct gtggttcttc 27000

ctcctgctgg tggcagctcc cagatgtgag tgcctcaggg atccagacct gaagatatga 27060

gatgctgcct ctcatcccag ggctcaccgt ggttctctct gttcacaggg gtcctgtccc 27120

aggtgcagct gcaggagtcg ggcccaggac tggtgaagcc ttcggagacc ctgtccctca 27180

tctgcgctgt ctctggtgac tccatcagca gtggtaactg gtgaatctgg gtccgccagc 27240

ccccagggaa ggggctggag tggattgggg aaatccatca tagtgggagc acctactaca 27300

acccgtccct caagagtcga atcaccatgt ccgtagacac gtccaagaac cagttctacc 27360

tgaagctgag ctctgtgacc gccgcggaca cggccgtgta ttactgtgcg agatacacag 27420

tgaggggagg tgagtgtgag cccagacaca aacctcccta cagataggca gaggggggcgg 27480

gcacaggtgc tgctcaggac caacaggggg cgcgcgaggc cacagagccc gaggccgggt 27540

caggagcagg tgcagggagg gcggggcttc ctcatcagct cagtgatctc cctcctcgcc 27600

agcactcaga tgtccccagg gctcctgttt ctttattgtc tgtggttctg cttcctcaca 27660

tccttgtggc agacaagaaa ggaggaagac aatttttctg tttactgttg aggtttcacc 27720

aattactagg aactttccta caagttcctg cgtgactcat tttaccgtat atgtgtgtgt 27780

gtataaatat atacacatac acacacacac catatatata caccatatat attatataga 27840

tacacaccat atatattata tatatacaca ccatatatat tatatatata cacaccatat 27900

atattatata tatacacacg atatatataa tatatatata cacaccatat gtatattata 27960

tataaacaca ccgtatatat atatggtttc tcaccatctc ttgatttgtg tcatcaatgg 28020

aattgtgccc tatttgaaat tcatttaccc aaaccttaaa tccaatggat ctataccgga 28080

attttaatga tgcaattaag gttaaatgtg gtcaaagtgt gagaccctaa ttcaataaac 28140

cagttgtctt tataagaaga ggaagagaca cccgagacct ctcacttttc gcgtgcacac 28200

agagaagaag ccgtgaggag acgtagtgca ctagaaggtg gccctgtgca agccaggaag 28260

aagccgcgct aagaaccaat ttttacagct ccttgatctt ccacattcag actgcagaat 28320

tgtaagaaaa tcaatatttg ttgtttaacc cacccactcc tgttgtcttc ttatgaagat 28380

ccaaacagac tgataccacg taattctgtt agctctggtt cgtggaggga ggagcagccc 28440

cctgaggctg gacacttctc tcagatttcc acgtgaagta ggtaaaaata gtagctctca 28500

tataaaaatg tgtcatgacc ctgttggcca tttttgagca aggtctctga aaccagccct 28560

tgtgtgtgtg tcacaaatgt tttcttttat cttttatttg gacataacac atagacaagg 28620

cgtaccagct ggatggagac tggtcactgc ccatcttctg ttgtctcctt aggatgtcac 28680

agaaaaccac accaacatca ccaacgtcac tgtttttctt caaccacctc aaaccgacta 28740

tagaaatgat ccctgcagta taagtctatt tcttcaaact ttctaaattt gcactggaat 28800

ctcttcctaa atggggagct acatggggtc tgagttttgt tcctttcttc ccagtcttcc 28860

ccaagtgcca aggacagaat agacttaaaa taaaatttgg ccgtcagtgg ccccaacccc 28920

acatcacttt ctaaaaccca catcctgcat ccatccttct ctggacaccc ctcatcgggc 28980

tacctacgaa tggccagaag ctgccatcac cttctgggct gaggccacga gttatacaca 29040

cgtgtgattt cagtcacaca cactctactg caggacacac ctgtgttctt gaggcactca 29100

ggcaccctgc tgatctcagt cattctctaa taaattacac atctcttatt aataaaggtc 29160

cagatggtcc catcagctgc agagcagtgg agtaaagctc atgggtgggt ccgtcaggta 29220

gaagtcagac aatggatggg atggctggtc acttcccttt tcactgatgt ccccagtgaa 29280

tattaatgga ataaaaccat attaactaca gagggacaga aaagaagact agctcatcaa 29340

ggtatttaag gaccaggaac tttatttggg gggaaagtga agacactttt aaatggaaag 29400

ccctaaagca catacaacag ctgacagagt ggccactgtg cacatgaagg ctgaggagac 29460

ggatggcagc gtccgttcct ccaagatgtc cctgggtgtg tgatggttgg actccttatg 29520

catatgaata taagagctgg actcagggag aaaaaagggc catatctcat aggaaaggaa 29580

gcccaaaaaa gcagatgggc atccctggag agagctcatt agatttggtg tgtttaagac 29640

aaaaatttct tccaaaaatt gtaatgttct aagctaaata tgaacctctt caataaactg 29700

agaattaaca ggagaataga gctatgagtt gagagaagaa acaaatcatg agagagcaga 29760

aagcaaatcc acaaaaaact gtcatatgac agaagtcaga atggagctgg ggcagctact 29820

tcattattct gaagacttgt tgaccatgtg gagaaggggc ttgaacaaat ggggacgttc 29880

tccaaccttc tgaatcagcc tccttcttat gcatgagtaa aaatcatagt tctgggtgtg 29940

accttcccaa atttcctgtc tgtacctctt cccccagggg tagagtgtct tcccaccaca 30000

atggtttctc accagtgtcc tcagcttctc ctccattgaa cttaccctgc agattaagaa 30060

tttcttctag atgtagttct ttgggaattt tctgttttct ttagtttctg ttgactccac 30120

cacaccccat aggtcacagg tttgattgat ttcccctgga gacagtggag gtggatccag 30180

gcgttcaaca gtcctcgctg ttcctccctt cctgtcagca ccacaggaca gcagataagg 30240

gagttgactg tagatttttc gaattcttgg gaaaatcctg caaggactag tagattcaca 30300

ctccaatacc attagcacat gcatccaaaa aaaatactca cgaaatattt ccaggttagc 30360

ctgttcctct ctcaatgcca tccagtggca cctgccctgg gttcaccaac atgtgggccc 30420

cactcctctc tgctggcatc tctctcctca catttcagtc ttctcgttag ctctgtgaaa 30480

gcaactcaga tatgttaaaa ggttttcttc ttcatttatt cagtttttca ggtttgttgt 30540

taatgaggtc agaataagac catagttttc tcatttttca cattcccaca ctgagtagcc 30600

actttctata taaaagccag aaactaaggg aacaaatcaa atatccatat ccactacagg 30660

tgaacgttaa acaatttgac atatgattat gaactaaagt acaatgcaga attagaatca 30720

aggcatcctc attctcataa aagcatgtct acattctcaa ataactctgc tgagtgaaag 30780

tagctgaaga attaagagtg caattcataa acttctaatt gtataaactg caaaaggtcc 30840

aactattcta aagtaacaga gcagatttga aatttgtgag aaacgggtgt tgaaagtaat 30900

tggctggtga gatgaaatta cagagaagtg acagaaagat ttaggggtta acttaattgt 30960

acacaacctg attaaagttt gcacacatac gttaccattt tccaaattgt gcagtgtaga 31020

tttgaattaa ttattaattg tacttaaaaa aagcagtaac aaataaacac atgaatatgt 31080

ttactgagga ggaacaaaaa atagatgggt atgaacactg gaaacatctc agactcttga 31140

aagtacacag gcttgaacac tggttctctc cgtatacttc cggtaaacgg ctgaatacac 31200

taaaagaaaa cagagatgtc ctggcagggg tggaatcctg cagacctcac taggtgtgtc 31260

ccacactgcc ctggagttgt ctcaggggag cagtctcctc tagtggtcag aggcacaggc 31320

tgagataatg gggttaactc tgtccagctg tgtgactttg aatgcattgt ataaacactc 31380

tgttctgtat gtaatttatc ttccttaaaa tgcaacattg acacttacat taaatgtatt 31440

ctacaaatat gtcaaaaaga agatgatgac tgctaaatga ttatcaaggc acaatcacat 31500

aatataatga tattttcctg agtgataaga tgactaccaa tctcgggggc actttgtctg 31560

ctctgagccc tgcccctcct caggattccc atcccagagc ttgctataca gtaggagaca 31620

tgcaaatagg tttctccctc tgctgatgac cagtcctgac cccatagctc tgggagagaa 31680

gcgccagccc tgggattccc aggggtttcc atttggtgat caggactaaa gacagaggac 31740

ccaccatgga gcttgggctg agctgggttt tcactgttgc tgttttaaaa ggtgaactag 31800

agagattgag tgtgaatgga tacacttgag agaaacagtg gatatgtctg gaactttctg 31860

accaggacac ctacaagttt gcaggtgtcc agtgtgaggt acagctggtg gagtctgaag 31920

aaaaccaaag acaacttggg ggatccctga gactctcctg tgcagactct ggattaacct 31980

tcagtagcta ctgaatgagc tcagattccc aggctccagg gaaggggctg gagtgagtag 32040

tagatatata gtaggataga agtcagctat gttatgcaca atctgtgaag agcagattca 32100

ccatctccaa agaaaatgcc aagaactcac tctgtttgca aatgaacagt ctgagagcag 32160

agggcacggc cgtgtattac tgtatgtgag tcaccaggta agaagacatc agtgtgaaca 32220

cagacacaga atttcctgaa ataagggagg agtctgggct aaaagggcac tcaggaccca 32280

cagaaaacag gggaagctct agggcaggtg cagatggtca tcatgggctg ctttccttga 32340

gggtctgagg cttcctctgc atctaacagt ttccctggga gcctctggac atttatgctt 32400

ctgtggccac ccctgaggtc tctggacatt ctcatttgtt gcaaaggcag atgtaagtat 32460

tggaggcata aaaatgcaca ggaggccagg gagtctgtag acattgttac cccagaaggt 32520

caatctcacc actagtgctg gaggagggtg ggagtttgat gaagctgccc taagtatcct 32580

gtggtctaag ctaagtccaa cgaggccatt tgtgcctccc tgagcacagt tatccatcag 32640

agatgtccca tgtgtcccag cagcagccat gtctcagtgt cttcactgtg cacagccagt 32700

gtctgggagg agctcccagg atgggtgtct ttggcacaca ccaggtggcg ggtgttagag 32760

tgcggtgcag cagctggctg cctgttctat tgggctccct gatgctggag agatgggagg 32820

tgcattctca ggtccagcac cctgtttgtg aatttttata taaaaaccat gattttactt 32880

cattttctca gatgacatag ataattagga acagaacctg caaagaaatt gtaattttca 32940

actttacccc aaatttattg tttcttaatt ctgtgtaaga tccagacata ttattgcctt 33000

cctcatgaga aattgttcta tttaaaatga aattagtttt ttctcacatt ctttgtttct 33060

gttcaagtac agagatcttg attaaagtaa gttgggttct ttccacacac taaccctcac 33120

ctccccccaga gaaagagcag agattttcct cactctgagt ctaagggagg agctgttcct 33180

gcacgattca gagcctgcag agacccccccc cgccaggtgc agcttcagtg agtcaggtat 33240

ttctccttgt gggtgacctc caccgccagt gattgctgct caggtctaat tgtgggttaa 33300

gcattaggac acccttcagg tgatcacatc tcagtcttat tctgaaaatc accatgaaca 33360

gggatagttc aatgcctatt ctcctgacat tagtttctct ttattatttg gttccaagta 33420

tggagaaaaa tgtgacaata aatttgtcag aatctaacct cagaatccac tgcattactc 33480

taggatactc acaaattgaa cacaaatgag ctctttattc tcataaaagt atacgtattt 33540

gggaatttca atgtgttctc cagaacctgt gcatgccaac aactgtgttt ctcagtgccc 33600

acttggcctg gtgaagccct cacagaccct ctccctcacc tgtgctgtct ctggattccc 33660

catcacaacc agtgcttcct gctgtagctg cattcataaa ccccccagga agggactgga 33720

gtgaatccag tgcacaggtc atgagggagt gcacattcca acccactcct caagagtcca 33780

gtcaccatct ccagatccat gtccaaaaag cagttcttcc tacagccgag ctaagtgagt 33840

cacaagcaca cagccatgta tttttaacaa aagacacagt aaggtaacca cagtgggaac 33900

tcacacccaa acctccctgt gggggtgcac aggacagcca cagttactca ggaccccagg 33960

attcctcagg acaccaaggg gcactcaagg ccattgtaga tgccctcagg tagccaaggg 34020

ttctcaggaa acatggagga aaaccaggac cccaaaaggt gctccgtaca gcaggggact 34080

caggacaatt gcggggactc agagcaggct caaagctcag cttcagggca ggtgcagctg 34140

gggttgaaag gggctggatg aggggttttg tgacaccatc atatttcacc actagacaca 34200

ctccactttg tctattctaa cgcatgtgag tgtatgatta gaaaatgata tttatataaa 34260

tacataacca tagttagctg tgtcaagttg tcctcttgct aggtgtccat agctaggtgc 34320

atcagccttg tccataagga ctaattcccc gcaattactg gagaatctca taaattgtgg 34380

tcaattatgt cagattcctc tctttttctg ccttcctttc tcccttcttc tctctctctc 34440

acacagaaac ttacatacac ccaccccaca acacaccaaa atctataact tttattacct 34500

gatatattca ataaacctga ttaatgtgca gcttttccag cttcgttatt tatgctgttg 34560

taacaataag aacaatgtgt ttcctagctg tgtacttctc taagctgagt agcatctttg 34620

tttataatac ctagaattaa aaacaaccca aatgtcaatc accagcttaa ttggtaaaca 34680

aattgaggaa aagtcattca ttgacatact atccactact accatcaact aatgttgggt 34740

acactcaaca gcatggttaa attcacaagt acttgtgatg agtaaaatga gccaaagtaa 34800

caaaagtgca tacataagat acaactttca taaattctat agaacaaaaa gtaatcttaa 34860

gttacataaa aatcagtagt tccactgtga gtattgtagg agaggggaag gactaggaag 34920

gaggaattat agtacaagac aaaattttga gggaattgac ttgttatcta tgttgctcgc 34980

gatgatgtct atgacccatt tgtaaaattg aacacttcat atggagatta ttatttttaa 35040

tttaactcca ttaatgatag tactaattat agcaggtata atttggtatc aaaagaatta 35100

gacagagata aataaaatac atgaaaagtc agagactctt gaatatacac ataaatgagc 35160

cctgggcatc tctgtatttt tagagaaatg ctagaatata gaaaaataat ggcataattt 35220

tatgtcacta aaaaagttta tcgaactcca ccagtcatgt ggtattagtt cattttcaca 35280

ctggtataaa gaactacctg cgactgggta gtttacaagg aaaagagatt tagttggctc 35340

accgttcttc atggctgggg aggccacagg aaacttacaa tcatggtgga aggtgaaggg 35400

gaaacaaggc acatctccca gggcagcagg agagagagag agggggggaag tgacacatac 35460

ttttaaacaa tcagtggttg ttagaactca ctcactacca tgagaacaac atggggaaac 35520

tggacccatg atccaatcac ctctcacctg gtccctcccc tgacatgtgg ggattacaat 35580

ttgagatgat actttgatgg ggatacgaaa tcaatctata tcacatgtcc agctctgtcc 35640

tggagttgtt tcagggatcc agggtgtccg gctgatagaa ccagtgacac caagctcaca 35700

ccctcagctg tagttgacac cacgcaaagc caagagatta caactaagat ttagtttgaa 35760

tgtcgtgtct gatgaagtca cacactcaga gaaagtgaat atggaaaagt ttattatttg 35820

cactctatag gtgtctggtg agtgcagggc aggtctccca ggaaaatctg aaacagcttg 35880

aaagaagagg aaaggagact ggctcagcat ttttatgatg gtttggtcct gggggcagag 35940

tgaggcttcc cactcacaga aaggggtttg cagggtttga aactcccct ggcatcgaat 36000

gaagaagctc ctgtgatttc aaactagagc caccttgtgt ggcaaaaaag gagatgatgg 36060

aggaatatgc tttaaatcat cagcagtcac gcacccaaaa atagtgtgac aacttattct 36120

atgcagcagg aataaaaata attaataaga aagaagataa gggttcagtg tgggtggaca 36180

acacgcaggt ctacagaaat gagatgactt tagaaatata agcaaaggat aatgaaaaaa 36240

aggaggggaa ggggaattaa acagggtcct ggtctgatgt cttgggtaga agcttctcac 36300

aatcaaggac taccagctca ttctgcaggt cttaggtcag ccatctgctt aaaaacatca 36360

gaaacgccag agaatctatg aacatggtca gtttaacatt tcctatttga gtagctttac 36420

agttgtgtgg aattcttaac tggttcttgt tttttctttt agatacaggc tctcaccctg 36480

tcacacagtt taaagtgcag tggtgtgatc atagctcgct gtaattttga actcctgact 36540

catattcttc ccatcttagc ctcttgaata tctagaacta gaggggcatg ccactcatcc 36600

cctccttatt ttttatttta ttttttcata taaataaggt ctctttgtgt tgcccaggct 36660

ggttttgatt gcctggtctc atgggatttc cctcacttcc cttctgaaag tggtgtgatt 36720

atacagatga tccagtgcat ctggcctgaa ttgattcttt aattgtaaaa tacgaaccca 36780

ataattaact tcctgaatgt tttctgcagt gagttagtta aaaggatctg acaagattcc 36840

ttccaatatg attcaagagc agtattgtcc actgatgttc cttccagttt ccttgttgaa 36900

gatcacaaga gtctgtggaa aagaggtagt aaaaaggccg cctcaaactc ttcgtggttg 36960

gagtgggtac cacacatgca agcagtagga caaggatgat ctctggggta aagtctataa 37020

acatataggc cttttagctg ccaagtcata gggtaataac tgatgcagcc tgaggagtgg 37080

accatggttt catagtgcta gtgggagaac ccttggccaa gcaagtttta cattttatta 37140

cattttatta aagatttgat aattttaatg taaagatgac atttttttaaa cattcccaga 37200

agattgtgag tggtattgat tctgtctcgt atgaacaatg acagtgccct ccacggttag 37260

attatgttat aaactagaat gaggtagagt gtttggtgtg ttaaatcact atttttttag 37320

cttctatgtt agtttttttgt ttgtgtgtta gcatttgctt taaaattcta ttaatcagat 37380

ctctagttgg tagaaattca tctgaaagtt tcttccattg ttgtccattt tgataggatt 37440

tccagaagat gtaagaaccc tctctgtttg caaaaatatt ccaaagttgt gcaccatcta 37500

gaaacatagt tacttaattc taatttttaa tttattaaaa agttgtgata agtgcaaagt 37560

tttctgcctt ctgaattgat ttcataacac acagaataat atatactaaa tggaagtttg 37620

tactagtaat acaaattact gattaataac ctctactttt attattgagg tattatccat 37680

caatatataa tcttaaatca atgatctcag tgggaatctt acctaagtaa tatacaaaat 37740

attttcctga tctcgacaca aaatagatgt gaacacattc ttcatattca gccatgtctc 37800

ctgtctatca cattatgaac cacatgctaa ctttgattta cttgggactt gctctaaatt 37860

caaactagtt atcttttatc ttcacgcagc tggattatta tgtgtggcta ttttatcaga 37920

gtgataagat acaatactaa caattttcac tgcaggcatg tctaggcaag ccccctgtgc 37980

acaatgacct tggtgggttg gacattctat ggggactctc ccctgtctgc ctaggagagt 38040

tatctgcctc ctccctctat cattttcctc tttgaataag tgcatctaac tgccgttaga 38100

atacagacaa aggccaacct taactgcttc cagctgacag gggatgctgt ttcgggaaga 38160

tctcccttga ggtctgtcta agggacccag taaaagggag ccattatccc aggcttcact 38220

tggatgacca tttggagttg atgcctgaag gtgagaagag acaaaccggg ttattagaag 38280

acatgtatca aaaccaaaca aggtggtaag gacagtttga aaaaaaattc caaggctgct 38340

gacacaccca gatatctggt ggctgtagtt atgcctgcta agatttgggt gcatggggct 38400

tggctttcgt tagctccctt ggacttattt tcccaaacaa agaaacctcc gggttagggg 38460

gaccctattt attccagtca cctggcatga tttgccggat aattgctcag aattaaaata 38520

ttcgtccaga tgtttatata gcccatgcct gtgtttcttc tgagctgcag ccagagatca 38580

ttggttggtt cacagcgata agcagagtta gtctaaaatg gaggcaaata cttaaaactt 38640

atttcttctc tcagttaatg gattctatag agaaaagtag ctactcagca tgggaatgta 38700

aaaaaatgag taaactatga tcttattctg aactcattaa caacaaacct gaaaaaccaa 38760

ttgaagagac tgtaatttaa agacaagtgt atgatatgtt ttgaaacata atttttctct 38820

ctccagttct gatttttgtc agaaactaat cattatagga ctgagttgtt tgcaaaataa 38880

actttagtct tatggttggt ctgatcattt gcataaagtg aagccataat aattaataat 38940

aattctgtag gaaaagcctg caagcatgag gagcttcaca gtctaacact atgagcacat 39000

gcatcctcca gcaactcact gaatattttc aagtcagccg gttcttagct taaataacat 39060

ccagttggta tctgtcccag gaacactaat atatggttct ctctgcaggc ccctttctcc 39120

acagattaag ggtttttttt ttttctctgt aatatcaact cagatatgtt gaatgctttt 39180

tccttattag tggtttttca ggtttgttgt taatgatttc agaataagat cattgtttac 39240

tcatttttt taaattcccg tgccgagtag ctacttttct ctatagaatc cattaactgg 39300

gagaaaaaat aacattttct tatgggtgaa caattaaata gtttgacata tatttatgta 39360

ctggtatata atgcagcttg aaatcaaggc atgcctcaat cataaaaatc atggctaaat 39420

tctcaaagaa ttgtgctgag tgaaagaagc taaggaatta agagtaaatt ttatataatt 39480

cattgtagaa atattagaag atgccactac cataaattaa aatgaagaag acttaaattt 39540

ttctgagaaa atggtgttgg gaatgatgcg gatgtgattt aagtttcaga ggaataagaa 39600

aaaagattta gggattaatt taattattca aaacttgatt gaagtgccga gtgaatggct 39660

ccaaacatag tctacatttt tcaaatcatt ccctataaat ttgaattaat tatttatttt 39720

tatacttgaa taaagcaata acaaagaaat aaatgaatat ttttgctaaa atggagcaat 39780

aaaaagactg atattgacag aagaaatatg actgacttct gaaaatacac acacatgagc 39840

cgtggttctc tctacatatt tagataaatt acagaaagtt gtcataactg atggggaatc 39900

ctgcagactt cactaggcat agtccacact gccctggagt tgtctcaggg gagctgcctc 39960

ctccagtggt tagagcacag gcccaggtaa taggactcat ttttttagat gtgtaatttt 40020

agacacactg cacaactgct gtgttctctg tgcaaattat ctcctgtaaa atgtaacatt 40080

gaaacctgcc ttaaatatat tgtgtaaata tgtaaaaata aaatcagatt gtgagagcta 40140

aatgctaatc aaggcgcaat cacgtaatat acaattatat tttcctgaat gatggaatta 40200

ataccaatct cccccaggac acttcatctg cacggagccc ggcctctcct cagatgtccc 40260

accccagagc ttgctatata gtcggggaca tccaaatagg gccctccctc tgctgatgaa 40320

aaccagccca gctgaccctg cagctctggg agaggagccc agcactggga ttccgaggtg 40380

tttccattcg gtgatcagca ctgaacacag aggactcacc atggagtttt ggctgagctg 40440

ggttttcctt gttgctattt taaaaggtga ttcatggaga actagagata ttgagtgtga 40500

gtgaacacga gtgagagaaa cagtggatat gtgtggcagt ttctaaccaa tgtctctgtg 40560

tttgcaggtg tccagtgtga ggtgcagctg gtggagtctg gaggaggctt gatccagcct 40620

gggggggtccc tgagactctc ctgtgcagcc tctgggttca ccgtcagtag caactacatg 40680

agctgggtcc gccaggctcc agggaagggg ctggagtggg tctcagttat ttatagcggt 40740

ggtagcacat actacgcaga ctccgtgaag ggccgattca ccatctccag agacaattcc 40800

aagaacacgc tgtatcttca aatgaacagc ctgagagccg aggacacggc cgtgtattac 40860

tgtgcgagag acacagtgag gggaagtcat tgtgcgccca gacacaaacc tccctgcagg 40920

aacgctgggg ggaaatcagc ggcaggggggc gctcaggagc cactgatcag agtcagcccc 40980

ggaggcaggt gcagatggag gctgatttcc tgtcaggatg tgggactttg tcttcttctg 41040

acggttcccc agggaacctc tctaagttta gcattctgtg cctatgaacg tcttctctaa 41100

gtatttgaaa gagattattt taatatgaag agcagttctc actcgcccaa aatgtggatt 41160

gatgcttact gggatgaaaa gtccccaaac atggtcaccc cgataagagt ctgagtgagc 41220

tcagggcttc ctgctgagtc tcctcctatc agaccaagga cagggacctc agtgaggttc 41280

ccccgtcaag aacagtcttt atggatactg attgtgggcg gcaacccacc caggtgccga 41340

cgcaagagac cgaggacacg agctgttcca gtacaataaa atataaaaca agaatagtta 41400

taccagatat agatcttaga tatgattata tatgaatatc attaatcatt agttggtagc 41460

aattactctt tattccaata ttataataat cctcactcta caatcataac ctaggaaaag 41520

ccaggccata cagagatagg agctgagggg acatagtgag aagtgaccag aagacaagag 41580

tgcgagcctt ctgttatgcc tggacagggc gaccagaggg ctccttggtc tagcagtaat 41640

gccagcatct gggaagacgc ctgttgccaa gcggaccatg gtctagtggt agactcagtg 41700

tcaaggaaaa acacctgcta cttagcagac caggaaaggg agtctccctt tccccgggga 41760

gtttagagaa gactctgctc ctccacctcc tgtggagggc ctgatatcag tcagacccgc 41820

ccgcacttat ccggaggcct aacagtctcc ctgtgatgct gtgcttcagt ggccacactc 41880

ctagtccgcc ttcgtgttcc atcctgtaca cctggctctg ccttctagat agcagtagca 41940

aatcagtgaa agtactaaca gtctctgata agcagaaata atattgtaag ctgtttctct 42000

ccttctcctc tctctctctg cctcagctgc caggcaggaa agggcccccc gtccagtgga 42060

cacgtgaccc atgtgacctt acctatcatt ggagatggct cacactcctt accctgtccc 42120

tttgtcttat atccaattaa tatcagcgca gcctggcatt cagggccact actagtctcc 42180

gcatcttggt ggtagtggtc ccccgggccc agctgtcttt tcttttatct ctttgtcttg 42240

tgtctttatt tctatgctct ctcgtctccg cacacgggga gaaacccact gaccctgtgg 42300

ggctggtccc tacactgatc acagacaata gagggtaggc caggatcagt gtcatgtagg 42360

acatcacagg tttcacctct gaacctttтc ctgacactaa atatgcaaat cagcatcagc 42420

actgatctgg tgattctttt gttcctaatc catttacttc ctttttcagt cgttgttttc 42480

atttttccat ttgcttttcc tgctttctgc aaaaggaaga tttttccctg tggtcaaaat 42540

tccggacctc aagccctttc ctggcgctca ggtgggtctc aggctgtggc tgctgcagtc 42600

acgcgggaga ggctggtggg actttcttca ctcctcgtca ctcagggccc tccactgtgt 42660

tgcatggaga cttatctgga aatgcaagtt gcgactgaga actgaagggg acaagcttgt 42720

ttggttaaca tgggatgtgg atgtgtttct aattttgttc tgataaactt tcacagagta 42780

actttctgca ctagtcatgt gaggaagagg atgtgaacgt agtcagaata aaaatagaac 42840

aacttgtgtt ataatcttta caggtgaagc tggagaaggt catgaataga gggttctcat 42900

gcacacatcc ctgataacaa gaactaccat aaaattactc tgcacaacca caactttcaa 42960

caaaggctac cacaacaata agagaattaa tattgtgagg atatctgccc tgcaactccc 43020

agtacaatct taaactgatt ccacccttgt tattaattct tctaccccca ggataattgc 43080

ctcagaacag ctcatgtaag tcctctcatt tatcccttaa aacaaccttt accaaccttt 43140

actaacctga cttcctttac ctacctaaat atgcccaggg ataatcccac tggaatgctc 43200

attttcaaat acatattatt tgattttgga gaatttcttt ctgtctgata ttcaggtgtg 43260

acaagctgta gagggtcaca ccactttcct gtgagatgta ggggatgaca atttgggggg 43320

atggctggaa acatccaata tcctcagggt cggccatcag taagcgcagg ctggaagtct 43380

cagaacgagt tgaagttgct taaccacgga attttacctt ctccagatca gctttgatgg 43440

aatcagggcc aaactggtta tcaatgataa tctacctaac attgagtcaa ctgatcacag 43500

ttttaataac ctctattaaa aattcacacc aacacttgga ttagtgtctg atcaaataac 43560

tacaaagtat tttccagcca agtataccat aaaacagacc attacccatg gagaaaaaca 43620

tttaacatga gttctaggtc cttacattgt taaaggtgta aaactgatta tttttaaatt 43680

atgcttttta tttttgctat tgagttgtag aagtttcatt tacattttgg atattaacgc 43740

ttttttcaga tacatgatat attatccaat tctgtgagtt ggaattattt cattgctttg 43800

cagaatattt ttttaatcta gtccaacttg ttcaattctg ctttttttta aatgtgcttt 43860

gaatgtaaaa tccagaaaaa gattgctaat ttttgaggat tgggagtttt acagttgcag 43920

gaatttcatt gaaatattta atgcatttaa agttaatttt tgtgtttatt ctaacctaaa 43980

attcttaatt cttcacatgt gaaaatccag ttttcataac atgctctttg gaagacacca 44040

taatttagcc attgtatgtt gatggttctc atgctgaaaa tcagttcgcc atcaaaatgt 44100

gggtttatat ctaagctctc tatatgcatt tatgctgaaa ccattcggat ttattactct 44160

gtgtttgtaa caaatgttga ggactggaag tgaaatgcct caagctttat tcttgcctta 44220

ttacagatat tagacccaaa tattctaacc ttctactagt gagtataata atagctgtcg 44280

ctttttttt ttttttttga ttcagagttt cactcttgtt gtgtaggctg gagtgcagtg 44340

gtgtgatctc agctcaccgc aacctctgcc tcccgggttc aagcgattct cctgcctcgg 44400

cctcccgagt agctgggatt acaggcatgc accaccacac ccggctaatt ttgtattttc 44460

agtaaagatg gggtttctcc atgttggtca ggctggtcgc gaactccaga cctcaggtga 44520

tcctcccgcc tcagcctccc aaagtgctgg gattacaagc atgagccact gcacccagcc 44580

tcttcatttt ttttttattc atatgttcat tcagcagcca ctatgtcttc ccattgattt 44640

ctttggtttc ctctttacta tctttttctt tttagtaaag ctgttactcc taagggaaga 44700

tgggaggtgg gcctggacag ggatttggtg cattcctctc ttcactcaca gttcttattg 44760

atctctccag tgtctctaga acactggttt tcctggcatt accgctgcag ataatttctc 44820

ttgcaatgta gtgctgatga ggaggtgtgt ctggatgcat ttcagctata gttgctgttt 44880

tgctttccct gacacaaccg tcccaagggg tagaggctgg agcattttgt gatgtgtccc 44940

cagtactgaa gaaaaagcct tcaatagcag gaggaattcc tcaactgtat acactctgag 45000

aatttaaaca ataacttctc tatcacactc aaatttaaac catccaatga atatgtctac 45060

tttaatcgtg tgttaactta aatgatattt ggcagcctct gtcccagaaa agattatcat 45120

ctgctcctgt ttatttccct gcaagtcttt atctctcttc agatttcaga tatcttgttt 45180

gtcttataac atcaaaaatc tgatgaattt aagaaaatgt gctaatttgc agatcagtaa 45240

gctttagtag ttgtgagaat aataacaaat ttttatggga tgcctgcatc tccaagctga 45300

gtagcatctt tatttctaac actcagaaac tagaaacaat gcaaatatca agaagatata 45360

tagataaaga gtaatggcat gctaatttac ggtaatcata gccatcacta gaatcaatac 45420

actgttgatg ctcaatgtgg ttgaatcaca agtagttata atgagtgaga agccacacac 45480

ataaaacaca tactatataa ttcctgtata ataaattctt gaaactcaaa accaaagtat 45540

tcaatatgaa ggattgactc agaatatggc aagggaaaaa aataattggg aaggaggaat 45600

tgtagagtaa cacaaggaaa cttttaagtg taatttattt gtttgttatc tggatggttt 45660

ttggggatgc acaggtgagc acgagtggaa ttacattttg ttgtgtttgt ttttttctga 45720

agagatgtgg tcctactctg tgacccaggc aggactgcag tggtgggatc atagttcaat 45780

gtagcttcca acttctggtc accaacaatc ctcctgcatc tgccatctaa gtagctgaaa 45840

ctacagttgt gtgccaccag gctcagcttg agtacttatt aaatcaaaca ctttatgcaa 45900

tatttaatgt atggcaataa tgtctcattg agagtattac aaataaatga atggataatt 45960

tgttcagtac agattgatgg aaaatagaca ctaacatgag gaatgtctga catttatgaa 46020

catacaactg cataaaatgt gttctcttac attcattagg taaacacaat agtgcataca 46080

catcaaacca tgctttcatt acaggaagga agttctgaaa atgtcactgg gggtgaccca 46140

cgctgtgctg ggcttggttc gggggcagtc aggcccggtg gtgagaagca caggcccaga 46200

tacccaggct tactctgcaa atgtgagctc tggggacatt gtaccaccca tctgtgcttc 46260

tgctggtaat tttccatctg taacgtggaa ataacattga tactacatac cgtgatttct 46320

ccacatatgt aaaaataaaa taagatgatt gctgctaagt ttaaataagg gcagttttca 46380

taggtccatt gtacctcaat aaaattactt taaaataaaa attacaaata cagttgtagg 46440

tttaaagagt ttatcacaga acaaacttat aataagaaac tatattttca aaaattgtat 46500

caatatctct aaactccccc aggacacact cacctgctct gggctctcca ctctcctcag 46560

gattcccacc ccagagcttg ctatatagta ggagacatgc aaacagagcc aaacctctgc 46620

tgatgaaaag cagcccagcc ctgaccctgc agctctggga gaggagcccc agctccagga 46680

ttcccaggtc tttccattta gtcttcaggg ctgagcacag aggactcacc atggagtctg 46740

ggctgagctg ggttttcctt gttgctattt tgaaaggtga ttcatgggga atgagttgaa 46800

tgtaagtgaa tatgagtgag agaaacagtg gatgtgtgcg gcagtttctg accagggtgt 46860

ctctgtgttt gcaggtgtcc agtgtgaggt gcagctggtg gagtctgggt gaggcttggt 46920

acagcctgga gggtccctga gactctcctg tgcagcctct ggattcacct tcagtagctc 46980

ctggatgcac tgggtctgcc aggctccgga gaaggggctg gagtgggtgg ccgacataaa 47040

gtgtgacgga agtgagaaat actatgtaga ctctgtgaag ggccgattga ccatctccag 47100

agacaatgcc aagaactccc tctatctgca agtgaacagc ctgagagctg aggacatgac 47160

cgtgtattac tgtgtgagag gcacagtgag gggaggtcag tgtgagccca gacacaaacc 47220

tcctgcaggg gcatctggag ccacaagggg gcgctcagga tacacagagg acaggggcag 47280

ccccagggca ggtgcaggtg gaggtcaagg gctgctctcc ttcagggtct gtggcttcct 47340

ctcatctaac agttccgcag ggagcctctt gtatttacag tgatgtgcta ctgaggtttc 47400

taagtttgta aagtttatta ctacaggagg aaccactatc aaacgccctt aaggcaggtg 47460

tcactaatgg agaaaggaaa gtgcacagga ggctgggtga ggctgtggac actgtctgcc 47520

tatgattcaa gtttcacaag cagtgacgga gaaatgggag tttgatggag ctccctaact 47580

accatgtggt ctaaactaag tccaactaag tccctgagct ctgggtgccc atcagggatc 47640

cgccatgtgc ccggcagccg cgtgcctttt tgtctcctct gcgcccaatc actgtctgtg 47700

atgagcttcc aggatgtgtg tgtttggcac aaaccaggtg atggacgtca gacagcagca 47760

gctggtgccc ggatcatggg ctccctaatg ctggaggaat gagaggtgca ttctcaggga 47820

caagacattg ttgatggatt tttatgtaga aaccacgatt ttacttgctt ctctcaggag 47880

acatagaaga agcaaccatg cagtcagcaa ataattataa tttccacaat taccccaaat 47940

ggttaatcct taattctgcg cagggtccca ccgtagagtc acctttctca tgaggaatgg 48000

ttgaatctag aatgagtcca catgattttc atatttttgg cttctgtcca tgttcagaga 48060

gttagagtag agtaagtttg gacctttcca cacactaagc ctcacctccc ccacagaaag 48120

agcagagact tcaactattc ctgagtgtgg ggtaggggct ggtcctgcac acctcagagc 48180

ctgcagagac tgccacgtgc agtgttatag acttgggtgt tttctcattc aggaggggtg 48240

acctccacgg cctccgattt ctgctaagat ataactgtga gtgcagaatt aggacactat 48300

taggctatca tgcctcactt ctattctgaa aatcaccctc tttatagtaa aagaaaacaa 48360

ttcaatgtcc atgcccctga aagtcatttc tttttaattt ggttgcgagt ttaccacata 48420

gtgcctgaat ttattctcag aatctactga attgtttata aatctcacaa attgaacaaa 48480

agtgaattct tcattcttac taaaatgtgt gtatgtagga atttcagtgt gttttccaga 48540

agccatgcac accaaccact gtgtttcatg gtcatttatt ggcctggtga ggccctcaca 48600

gacccctcc ctcacctgtg ctgtctctgg attctccatc acaactagtg cttcctgctg 48660

gagctggatc cgccagtcct cagtcaaggg agtggatcag ggcataggtc acgagggagc 48720

acaaattcta acccactcct catgagctca gtcaccatct ccagatccac gtccaagaac 48780

caaattttct tttagctgag ttctgtgacc aacaatgcca caaccttgta ttactgtgag 48840

aggaacagaa gagatgtcag tgtgatccca gacacaaact tccctggaga ggggcccagg 48900

accaccaaag agcactcagg cccatgaaaa cagggcccaa gctggagaac gggtttcctg 48960

tcaccctcac ctttcaccat tagatactct acactatgcc tatgctgagg tgtgtgttta 49020

atataattag aaaatggtat ttatatacgt gtataatcat atctagtgta agaatttgta 49080

gtttccacct tatgtgacca ttaaagacaa catctctcac gttattcaag gaccttataa 49140

agtataatac ttttacataa gatttatctc cttttgtgtg tttctccttc tgtctatatt 49200

ctctctctct cttcctccct ctttctctct ctctctccat ctctctctct ctgtctctct 49260

ctcacacaca aatacacaca catgcaatcg gtgacagtat ataggctaat taagaatata 49320

ttcccatatg atttaaaaat aacagtttta caaatatttg cctttaattt ttcaaagaaa 49380

attaaatcca aatgccagtg atttttttatg tgacttttaa aatttaaatt gttaatttgt 49440

gttttcatca atgcttgtat gtgtgcttgt gtattctcac agattatgtg gtgccttcac 49500

agaattaaac atgtgaaact ctccacttga atttctgtga ctcaggactg gtgagcaaaa 49560

agttagaagt cactctcctg atccttccct acagctgcag attcctgaag gtaatgacct 49620

cacagtagac caaggccctc aaaggtgacc ttgagttcca gcacatcttg ggaggccaag 49680

cggatgtttg tgaaagaaat agtggctatg tgacagtttc taaccagaat atctctgtgt 49740

tttcaggtat ccagggtgag gcccagctta cagagtctgg gggagacttg gtacactgag 49800

aggggcccct gaggctctcc tgtgcagcct cttggttcac cttcagtatc tatgagattc 49860

actgggtttg ccaggcctca gggaaggggc tggaatgggt tgcagttata tggcgtagtg 49920

aaagtcatca atacaatgca gactatgtta ggggcagact caccacttcc agagacaaca 49980

ccaagtacat gctgtacatg caaatgaaca gcctgagaac ccagaacatg gcagcattta 50040

actgtgcagg aaacatcgtg atgggaagtc cacgtgggct cagagacaga ctgccatgca 50100

ggacacaggg ggtggcttgg ctgaaggggg cactcagcac ccacagaaga caggagcagc 50160

ccagggcagg ggcaggtgga gttcaagggc tgctttcctg tcaggttctg tggcttcttc 50220

tgcatcaaat gcgttctcct gggagcctct ctatatttat ggttctctgc ctaccactga 50280

ggcctctgga ttggaaaaga ttactactag aaaaaaaaat tctcatatac ccctgaagaa 50340

tacatcatta attgaggcag aagatgtcac aggaggccag ggaggctgtg gaaactgtgc 50400

gacgtggatg cacatctgac aacaaagaca tgaaaaatca gggaacactg ataaaacctc 50460

ctaattatgc catggccctc tctaagccta gtaaagccat tgatgccttc ctgggccaaa 50520

cccacccatc aggggatcac tcctgtgtcc cagcagcaga catgccttag aatctccact 50580

gtatgtaatc actgtctggg aggagctccc agggcatgtg tctttgcatt aaccaggtga 50640

tgggtgtcag agaacagcag ctggatgcct ggtctatggg ttccctgatg ttgaagaaat 50700

gggaggtgca gtctcagagc caatacactg tttatgcatt tttatataga aaccatgatt 50760

tttcttgctt ctctcagatg acatagagga tcaagaaaac agtctgtaaa caattgtaat 50820

gtccccattt cttctgaata aatgcattat ttcttaattc tgagtggggg tttgtcagac 50880

catgcccttc tcctaagcaa ttgttcaatc caggctgaaa ccacatgggg atcacatact 50940

ttggtttggt tcaggtgcag aggtcttcag tagagcaaat ttggtccttc ccacacagta 51000

agcctcacct tcctcagaga aagagctgag attgatccaa ctttgtctga ggtgggagct 51060

gcttctccac accttggagc ttgcagagac ccctaaatgc agctttattg agtcaggtgt 51120

gtctccatgt gggggacttc tgctgctagt gatctctgct cagttctaaa tgtgggttca 51180

gaattaggac acttaggtta tcacgcctca aaaattacca tcattgtaga tagaaataat 51240

agtacaatgc caattgttgt cacttgtttc ttattattat tggagtataa gtttgaagag 51300

acaaattgtt accatatatt tgcataaatc taatgtcaga atctcttgaa ttgctcttga 51360

acacttacaa actggttaga agcagattct tatttttttc tatactagtg tattttggga 51420

tgtcaacatt ttgtccagaa catgtgagta ccaataactg tgtgtttcag aaatgactgt 51480

gagattcagt catttctatc gagtgggaaa accagttaac tttgtctttg atatatggat 51540

ggaagcccaa gatagaggct tgtcagtcat tgtttctgtg ccttctccct tgggaatgtc 51600

tgtatttttt tatgctctgt cctgggtcta taccccaatg gttcccctac tccatggcac 51660

ctgcctgtgc ctgtgcatgc ccctgcccac actctccgtg aaacatctgc tttggctcag 51720

gaagaacccc tcctctgcct tttttcctcc tgcccctggt ccacattctt ctccatccac 51780

aggctctcag cagcacctcc catccacact aaccctacat ggggtcatac cttgtccacc 51840

acttcctctc tcttttcttc tgagctttgc cttttattcc aacagcctgt ttccatctca 51900

cctggacttg tgtacaggaa aggatttacc gagcagtctt gggttgtgca aaccctgaac 51960

attcctgaaa aagtgctttc tcaagctagg cccatattca gctcctggga gatgatatct 52020

gccttttgg catactcctc ctggtagtat tattaaacca cttgattaag ataaggttta 52080

catctgtaaa actacacatt atttaacata cttaactcat tgagtttgga gtaagtatac 52140

atctgcaaag ttatccccat catcaaggtc ataaccatag aaatcacttc caaaacattc 52200

ctcttatctc tcttaatatt gtgattattt tattagttaa aatgtatttt tgtttgtgtt 52260

tgtctgtgtc tctgtgtgtg tagcctgggt gcacgctata ctacctgttt tcataatgac 52320

ttatggtgaa tgcctattag tgctcaagag gccggcgtct gagcactgga ggtcaattgt 52380

gcaggtgtca cacacatctg tgatgggccc aataaacagc cctgggcaca agcactcagg 52440

tgagcttccc tggtggacaa tgcttcacac atgttgtcat gcatcactgc tgggagaact 52500

ggggacaaga gactcctcag ggaaagaaca cctgggagct catgcctgga ttctcagggc 52560

cttctccctg gtgcctttgc tcattttaat tcatattcat tcgctataat aaagctgcac 52620

ccatgagaat aacagctttt cttgtgtcct ttatttgtac tgattaaggg gcctgaggat 52680

ggtcttggga cactcaacac aattacatca gagttggaga atgctagaaa gttcctgatt 52740

gctgacgcat ggctagagga ttttttataa catcaaagga tgagaaagtg cgggataaaa 52800

gacattcaat gcccagatgg ctacagaatc atatggcatg agatggcatg tacactccaa 52860

taaggagcag gaagtgaaag taatccatgg aatttagaaa caacagatac agcttcctag 52920

gagttgttcc ctgaaaaagg aaaagtaaaa ataatgagga acaacccgaa tatgcaattc 52980

atatctgtga tagctaaaat aatagtaaaa agatgcacat ccagccctgc agtgtgccct 53040

gtgagccgag gctgctagac tcccattcac caccaaaggg tacagttgtc cagaaacaac 53100

acacaacaca taagagtgac acagaaggta gcccagagtt tgggctgggg agaggaatcc 53160

actagacaac tataacaagg aggacagcat ggaaagtggc atcattttgt gatatgattg 53220

atatcattaa tttatatcat cggattgtga acaaagttag ccaatggact atgagagtga 53280

ctgacgtagc agcttctctg gcttcgtgtg ctgcagatga gaggagaatg tttgggagga 53340

tgctggaccc acagctcaca acagacatat gacagacgta gctgatccca acctcaagta 53400

ggatgttctt gatgagacag cttccctggt gcactggata tcagatcctg tatagtttca 53460

gaacttgtgt agtttgtgtt gctttggctt tttctctgga tcttttaggt gctaatgaaa 53520

tgagagtgct tcacaaaaaa atggggcaga caaaggggat agttaagggc ctcctccaag 53580

caatgtggat atcataaaat aaatgttaaa aaatgaaaga actaaacaag aaggtgctgg 53640

ggttgacaca aaggacttaa aacagcacta ccaggagttg ggtgcagcaa tgggcatccc 53700

ttcaggtcca tcagcaagtc agagacctaa acaaatattc cctattcatg ttgaattggc 53760

agagtgtaaa aatctagaag acaaaatggc caggaaaaat gtgcgatttt gcatgggtga 53820

aggtctggca agttaatcat cttgaggact gttgaggtcc tgaggtggtc ctgcccttgc 53880

ttgatgccca ggccgtagtc caactcacac gaaattgcca gggaatagac agtagttttt 53940

ttagtagttc ttgttatcag gcataagtgc atttgaattt tctcttcatg gcctttcctg 54000

gcactatttc tcatttttt taacacacat agtttcaact agatttatca ccttcacagg 54060

gtcacagaga agggtggaag aagggaggcc ctggtatggg tctcgaagaa acatggaaaa 54120

gagtggagag ggacaatagc agggtgtaag gaattattga gaccttactc tgcccctccc 54180

aggaggctca ggccagcctt tttctgcatt tgaggttctg ggttataaac gctgtagact 54240

cctcccttca gggcagggtg acaactatgc aaatgcaagt gggggcctcc ccacttaaac 54300

ccagggctcc cctccacagt gagtctccct cactgcccag ctgggatctc agggcttcat 54360

tttctgtcct ccaccatcat ggggtcaacc gccatcctcg ccctcctcct ggctgttctc 54420

caaggtcagt cctgccgagg gcttgaggtc acagaggaga acgggtggaa aggagcccct 54480

gattcaaatt ttgtgtctcc cccacaggag tctgtgccga ggtgcagctg gtgcagtctg 54540

gagcagaggt gaaaaagccc ggggagtctc tgaagatctc ctgtaagggt tctggataca 54600

gctttaccag ctactggatc ggctgggtgc gccagatgcc cgggaaaggc ctggagtgga 54660

tggggatcat ctatcctggt gactctgata ccagatacag cccgtccttc caaggccagg 54720

tcaccatctc agccgacaag tccatcagca ccgcctacct gcagtggagc agcctgaagg 54780

cctcggacac cgccatgtat tactgtgcga gacacacagt gagagaaacc agccccgagc 54840

ccgtctaaaa ccctccacac cgcaggtgca gaatgagctg ctagagactc actccccagg 54900

ggcctctcta ttcatctggg gaggaaacac tggctgtttg tgtcctcagg agcaagaacc 54960

agagaacaat gtgggagggt tcccagcccc taaggcaact gtatagggga cctgaccatg 55020

ggaggtggat tctctgacgg ggctcttgtg tgttctacaa ggttgttcat ggtgtatatt 55080

agatggttaa catcaaaagg ctgcctaaca ggcacctctc caatatgaca gtattttaat 55140

tagtgaaaat tttacacagt tcatcattgc ttgcttgcct tcctccctcc tgtccactct 55200

cactcactcc ttctttttatt ttctacttaa ttttacaaaa tcatttaacc ccttttttgaa 55260

ctattaatag gttatctttg tttggtgatt gttttccttt caataatatg tactgaataa 55320

ttcatctttg tgccaattca taagtattct ggtgtaataa agacttcttt cataaaaatt 55380

ggataaatta aaataaagat aaatttttaa aaacatacga tctatcaaaa ctgaaccata 55440

aagaaataaa aactctgggt tgggtgtgtt tgctcattcc tgtaatccca gcactttggg 55500

aggccatggc cggtggatca cctgaggtca ggagttcgat atcggtctgg caaacgtgga 55560

gaaacgctgt ctccactaaa aatacaaaaa ttagctggac atggtggtgc tcgcctgtag 55620

tcccagatac ttgggagcct aaggccagag aagagattga acccgggagg cagaggttga 55680

aataagccga aatctagcca ctgcattcca gactgggcaa cagagtgaga ctccatcccg 55740

aaaaaaaaaa actgaacaga cctatgagta aagagattga gtcagtgatt tttcaaacat 55800

ctcaaatcaa agaaaagtca agaacttcat ggcttcacta ctgaatttta tcaaaaattt 55860

aaaaaaaaac tagaatctct atacaaattt ccaacaaaat aaagaggaaa aaatacatgc 55920

aagcttattt tggaaggtcc tatttccaaa gcaaggaaaa gacactccaa ataaataaaa 55980

ttacaggcta atatccctga ttatctagtt tcaaaaactc tcaagggtgg tgagaaacca 56040

aattcaacag cacattaaca acagaattca ccatgatcag gtgtggttta tctctaggaa 56100

gcaatgaagt ttcaacctgc agaaataaat gtgatatatc aaatgaaaat attgaaggac 56160

taaaaccata tgcaccatat gtccatgtca atagatgcag aaagagcctc tgtcgaaatc 56220

cactacactc taatttttaa aaatctgaac atattatgca taaaacatat atacctcaac 56280

ataataaaga ccacatatca caagcccaca tctaacatca tacacagtga tgaaaatttt 56340

attttcctct aagactagaa actagacaag atgcttcact atcaccaata ttattaaaca 56400

cagcactggg tggtctagac aaaacaggcc agaagaaaaa aatagaagtc atccatatag 56460

taatgaataa atataaaata tatttttaca tattacatgc tcttatttat acaaagcctt 56520

aaacactcca ccaaaaaaga ttgaaactaa tgaagaaatt caataaagtt gcagaatcca 56580

aaatcaaact tacatttcaa gatggcaggt tagaggcatt gctagtattc ctcttccact 56640

tggaaggaca aactgatgtg gagagatgaa catcgcggac ttattttcaa gaagcaatgc 56700

aggaactgaa cagaaacact gaaataatct acaaactttc tgaaaaagca ggaagctgca 56760

gcctacactg tgagtcaggt gaagggctgg gagtccccag catttgaggg agaacagcca 56820

aaaatttcag ccagtggtcc caagttgaaa gtagctctca acaggggtgt gtaatataac 56880

ctagggttgg gacgaactcc cttggccagg gcctgggtag ggaagtgtta aaagtggtct 56940

ctgcaagttt aggagccatg ggtgcaggag ctggtgccct gctttgcagc agacaggaag 57000

gggcatggca tgaaacccat ggctgcagtc tccatgggga cagcctatga ctcctggcat 57060

ttggaggtat tgatcacaga ttgactgaaa ctcatctcac tgctgccagt ggaacaccac 57120

gggagtggat cagcctcacc aagtatgtgg gaactgtgtg gggcctacca ccacctgcca 57180

ctccccaccc cctgcccaaa cttctgtgga ggagaggcag ccatggtccc atctggaaca 57240

tcatcccagt ggcctgagaa ccacccctgt cccccacacc cacaggggct gctgcttgcc 57300

ctgcatacag agactcagag gggaaaccca cctggcccaa ccctcacctt gctttgtgca 57360

gccacctgcc ctggcagctt aacacaaaag acagcatctt ttgggagcta catagccaca 57420

cccactgcct aagaatccat agtagccccc atacctgggc aacacaaggc ttgcaaaaat 57480

cccaccgcta ataatgcagc tggtgctctt ttgcaagcac cacctcttag ctggaggcca 57540

accaactatg cattacagca tctcctagta gactaacact gcatcctgga aggagaaaat 57600

gactgtgcga tctcagttat caccatggcc tgcaccactt tggatgacca ggagatcctg 57660

agtctctcca tgtgaccagt tcattgctac tatacccatc attcaagaaa gccagtacac 57720

aaaggctatc aatatccatg gaatttcaca gagtctcctt cactctcctg cctgccactc 57780

ccatcagacc cggttctgct gttcactgtt gaaaaatatg aggacagttc acatcactgg 57840

atcacttaga gacatttgcc cacaccagcc tgaagtgtgt caacgtcact gggcagctag 57900

acctagagaa gaaacataac tcacagtacc atggctccca ggttctcctc ctcttagggg 57960

aagggagtgc accacattga gggaacacct catgggacaa gagaatctgg atggcaggcc 58020

ttggacacca gatccctcca ctggtgggaa acttcttcta gcagaagtac agttgcagca 58080

ctgggctcag ctgggaaagt cttcagctct ttctcaacag acagccctgt tgcttgtgaa 58140

gaatcttgaa gaagaggaag cctttccccc ttgtacacca ctgtaggcac acttggggtc 58200

tctcccacaa gacctcagca tgggtgcaac tatagacagc ctttctggaa cacatcattg 58260

tgactgcatc ccccagaaac agcactttct ggattcaggc ttgcatgaga cagagagtca 58320

cagttcctct ctatttggca catgaacatt tgtacagatg aaaaaacatg cctgtcttat 58380

ctgaatagcc ggaatactgg gacagcagta tgtctgagag gtggataaat ttcctactga 58440

cttgacaaga gagctgaggt ggttccaacc cttcccaccg ataagacctc agtgggactc 58500

actaaaacct ctttcagcca actctgtcaa ggctgggact taatttaccc acctgcttta 58560

gccacaacta gtttctaccc aaggaaaagt cctccactga tgtgaagctt gagccatcaa 58620

gcaaataaat aaatcactgg ggacaaataa aataaacatg tgcatgccac agaggaatga 58680

gataaggttt aagagacctc taccattcta accccataga agacagtgaa cttgctcaca 58740

gaccgagcag atttctactg caatcaacac ataggaaagc catcatacaa agattctcca 58800

taaccccgga actcttacag agtcttcacc cctctaagga ccaaaaacca aatcaggttg 58860

taattaatta taagcattaa agtctcattc ttaagggaaa aaaatccatt taaaaacaaa 58920

cacaagaaac agtcaaatca aacataaatt caataataat tagaaaatct accaaaatga 58980

gaggaaatga gaaaaataac tggggaaaaa tgagaaaaca gggtgctgtg ccagtgccaa 59040

aaggtcacaa ggtcacacta cctctccagc aataaaccat aacaaaaatg gagtctttga 59100

aatatcagaa aagaaaatca gaatgttgat tgataagcta ctcaagaaga tatcagaaaa 59160

aggcaaaaat cataataaat aaatttataa aactgttgag aatatgaata caaattttta 59220

cagagagata gacatcctaa agagaaacca atcagaactc ctgaaaattt aaaaaaatgc 59280

agggaattgg aaagggaatt acaaaatgcc atggaaagtt tgaaaaatag actagaaaaa 59340

agtagcagaa ataacaatag actagaaaca gtacaaaata aaagtagaag taaaatattc 59400

gaggaaaaag aaaaaggaaa cagttaaaga aaaaagtaga aagaccagac tattattgaa 59460

ataaccaaat cagagaaaaa taaatttaaa aagagccaaa agaagtgaaa aaagtctcca 59520

ggaaatatgg gattatgtaa aacaaacaaa tttaagaata attggtgctc ctgaagaaga 59580

aaaaataata ataagtttgg gaaaacttct ctgaaggaat aattgagaac tacttctctg 59640

gcctgactaa agacctagat atccaaatcc aaaaagttca aggaactcct ggggaattca 59700

ttgcaaaaat accttcacca agcatacagt catcaggcta cctaaagtct acatgaagga 59760

aataattcta agagcagtaa aacgaagaaa cccatcagaa taatggcaga cgtctcagca 59820

gaaacttgac aagcaagaca gattagggtt ctattttcaa actccttaaa cagaaaaact 59880

ttcaaccaag aattcttttt tatcccgcca aactgtttta taaataaaaa agaaataaag 59940

tcattttcag aaaaacaaat gctgagggaa ttcatcacta tcaaaccagc actacaagaa 60000

atgctagaat aagttctaaa ccttgaaaca aaaggccaat atgcacaaaa atggaacctc 60060

ttaaaaatta aaaactcacg gggcctataa aacaataaca caatatcaaa gaataaacaa 60120

aattaggtaa cgacatgaca aagagaatag caactcatat ctaaatattc acattgaatg 60180

taaatcataa aaggcatgga agaaggaatt tcacaaaaat agaaaccagg agtgagcagg 60240
actagctatt tttgatctca gacaaaacag gacttcaaag caaaaacaat ttaaaaagac 60300
atagatgatc actatacaat gataaaagga tcaattcaac aaaaaattac aattacatat 60360
ttatatgcac caaacactgg aggaactaga ttcattaaac aagtactgct agacctaaaa 60420
aactgagaga gttagcaaaa caatcataat gggagatttt agtacaatca tgacagtact 60480
aaacagatct tcgagacaaa aagtcaacag ataaacaatg cacttaaatg actcactgga 60540
acaaatggat gcagcagata tttacagaac attctatcca agatctgcag aatatacatt 60600
cttctaatca gcacatgcaa cattctccaa ggtagagcat atactaggcc acaaaacaag 60660
tctcaataaa tttttaaaac aatgaaatca tatcaagtat cttctcagac cacagcagaa 60720
taaaactaaa aatcatctcg ctaaagaact gtcgaaaatg aacaaataca tagaaattaa 60780
gaaatttgct tctgaataat atctgggtta acagttacat caagatgaaa atttaaaaat 60840
tatcttaatt aaattataat aatgagacaa gttattgaaa cctcaaaaat aaaggaaaag 60900
cagtgataag aggaaagttt atagtgccag ctgcctgcat caaaaagtct gaaagagcac 60960
aaattcacaa cctaatgtca caccttgaga aattggagaa acaagaacaa actaaacata 61020
gagccagaag aagaaaagaa ataacaaaga tcagagcaga actaaatgca atccaaacaa 61080
aaaaaagcaa tgaaacaaac agttggttat ttgaaaaaat aaacaaattc atgggtcatt 61140
agctagatta acaaagaaaa gaatatcaaa gatccaaata agctcagaaa tgaaacgaga 61200
cattacaatc tacaccacta atataaaaaa taatttgaga ctactaagtt caccttcatg 61260
tgcacaatgt agaagactta gaggaaatgg aaaaatttct agaaacatac aacactccta 61320
gattaaataa aaaagaaaca gttactttga atagacaaat aacaaacagt gagattgaat 61380
cagtaattca agaattgcca acaataacaa caatgaaata gggccaggtg aattcacagc 61440
tgaattctat caaaaaattt aaagaagaat tgctgccaat tttgctgcaa ctatttttta 61500
aatttagata aaaaagaatc ctccctaaat tattctatga agctagtata accaagatac 61560
caaaaccagg aaaacacaca cacacagaca cacacacact ctacagatga atttccctga 61620
taaatataga tgcaaaaata gcaaaaaaaa aaatagctag ttgagttcaa cagcacatca 61680
aaaagataat tcctcatgat caagcgtgtt tcatctcaga attgcaggga ttatttgaac 61740
atactcaagt caataaatgt aatacatcac ataaacagaa ttacaaataa aaaccttacg 61800
attgtctcaa tagatgcaga aaaagcattc aacaaaattc agcatttttt aatgataaaa 61860
actgtaaata aatgaggcat agaagaaacc tgcctcaaac taataaaagt tacatatgaa 61920
aaatccacag ctaatatcat gctgaatgtg aaaaagttaa aagcatttac cctgagaaca 61980
caaacaatac aaggatgccc aagttcacca attctattca acatagttct ggaagttcta 62040
gccagagcaa ttagtcagga gaaaaaaaat aagggtatcc aaatttaaaa agagaacgtc 62100

agactatcac tgtttacaga tcaagggatt atatatatta aaaccctaga ctcctccaaa 62160

atactaatag ttttagtaaa tgaattcagt taagtctcag attacaaaat acatgtacac 62220

aaattagtag cacggctata tatcaacaac agcaatgctg agagttaaat caagaactcc 62280

atccctttta cagaagctgc gaaaagatag tatatttacc aatatactta accaaaaggg 62340

taaaagatct caacaaggag aactacacaa cactgctgaa agaaatcata gatgatacaa 62400

acaaatgcaa atgcatcccc tgatcatgga ttgcaagaat cgctattgtg aaaatgacca 62460

taatgcctaa agcaatctac agaatcaatg aaattcttat taaaatacca acattatttt 62520

cttcagaatt caaaaataat aacgctgaaa tttatttgaa accaaaaaaa agccaaaata 62580

cccaaagaaa tcctaataag ataaagaaaa ttggagccat cacattactg aacttcatat 62640

tacaccacaa ggctgcagtt accaaaacaa catggcactg acataatagt aggctcatag 62700

accactggaa caaaatagag aacccagaaa taaagccaca tatgtaaatc caactgatgc 62760

tttgcaaaat gtaccaaatt ttaaattgaa aaatagacac cacatttaac aaatggtaca 62820

agaaaaacta gcaagccaca tgtaaaagaa taaaactgga tttctatctg tcaccatata 62880

aaagaccaac tcaagatgaa tcaggtactg aaatataaga cattaaactc aaaaattcta 62940

gaaaacaata ttggaaaaac acttttagac atcagggtag gcaaagaatt tataactaag 63000

accccaaaag caaatgcagc aaaaacaaaa ctaaatttat ggaacccatt taaactaaag 63060

tgtttcttca cagcacaact aagagtcaat ggagtaaaaa gacaactcac agaacgggag 63120

aaaatatgtg caaacttcac atctgacaaa aaattggtat attcagaatc tacaaaatac 63180

taaaacaagt cgccaagaaa aaacaaacga tcccatttga aagtggacaa gggacataaa 63240

tagatagttc tcagaagaag atatacaaat ggccaacaaa catatgaaaa actgtgtaac 63300

atcactaatc atcaggaaaa tacaaattaa aaccacaatc taataacacc taatcctgca 63360

agaatggcca ctataaaaag tcaaaaaaca aaagggaatg cttatacact gttgatgaaa 63420

atgtaattta gtataaccac tatggaaaac actattgaga tttcttgaaa agcagaaagg 63480

tagatctact attttttttt tctttttga gatggagtct ctctcagtca cccaggctgg 63540

agtgcagtgg tgcaatctca tctcattgca acctccgcct cccgtgtcaa gtgatgctcc 63600

cacctcagcc tccggagtat ctgggattac aggcacccac catcatgcct ggctaattgt 63660

tttttgaatt tttgtagaga aggggtttcc ccatgttggc caggctggtc tccaactcct 63720

gacctcagct gatcctcccc gctcggcagc ccaaattact gaaattacag gcgtgcagca 63780

tcacacctgg ccagatctac tgtttgatcc agcaatctca ttactggaga gctacccaaa 63840

ggaaataaag tcattatatg aaaaagacgt gtatatgtat gtttatagca gcagaattca 63900

aaattgaaaa tatgtgaaac caatttaaat gcccattggc caatgagttc agaaagaaaa 63960

tgtgacatcg cctgtaatcc cagcatttcg ggaggccgaa gagggcggat cacgaggtca 64020

ggagatcgac accatcctgg ccaacatggt gaaatcccgt ctctactaaa aatacaaaaa 64080

atttgccgga cctgttggcg tgcacctgga gtcccagcta ctcgggaggc tgaggcagga 64140

gaattgcttg aacccgggag gcagaggctg cagtgaaccg agattgcagc actgcactcc 64200

agcctgggtg acagagcaag actctgcctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaag aaaagaaaag 64260

aaaaagaaaa tttgacatat atacatcatg gaatactacc aagccgttaa agggaatggc 64320

ataatgtcct ttgcagcaac ttggatgaag ctggaggtaa tgagtataag tgaagttaca 64380

caggagtaga aaagcaaaaa ctgtgtttgc acacttacaa gtgggagatg ggctatgaac 64440

ttgcaaaggc atacagagtg atataaggga ctttggagac tcagaaggga aagaatagga 64500

tggatactag agagaaaata actacacttt aggtagagtg tacactattc aggtgatgaa 64560

tgtactaaaa tctcagaatt tattgctata taattcctcc atctaacaaa aaaatattta 64620

cccccaaagc tattgaaatt aaacaaaaat caacctacaa aaataagcat cttctgtata 64680

cactaaaaaa tgattattca aaattaaaat caagaaaata aatctaaata caacagctta 64740

aaattcataa aataaatttt accaaaataa atttaacaag gatacaaaat atctgcacat 64800

tgaaaattat aatatattga ttaaaatgta agaaaacaca aataaatgga aggctatctt 64860

gtgttcttgt gttactggaa catacattgt taatatgtcc atcctaacct aagcatttac 64920

agattcaatg caatcccatt caaaatttca aagatatgca tttacataaa ttgaaaaaaa 64980

aaacctctct catttgaatg gctggggtga ttgacccgga ctatcaattt gaaatcagac 65040

tactactcca caatggaggt gagacagagt atgtctggaa tacaggagat ttcttaggac 65100

atctcttagt attactttgc catgggatta agatcaatgg gaaaaaacaa cctaattcag 65160

gcaggaatac aaatggccca gatacttcag aaataaaagt ttgggtcttc acccagatta 65220

aaaatcctga ccagccaagg tacttgctga aggcaaaaca aatacagaat gggtagtgga 65280

agaaggtagt tgtcaatacc aggaatgacc acacgaccag aagtggggac cgtaattgtc 65340

gtgagtatct ccttaagctg ataagcaact tcagcaaagt ctcaggatat tttctccata 65400

tcttgttagg aatatatttc tgcatgtgta taactgtact aagaaaatat cttcattgtg 65460

ccggacacgg tggctcacac ctgtaatccc agcaatttag gaagccaagg tgggtggatt 65520

acctgaggtc tagaggtcga gaccagcttg accagtatgg tgaaacgccg tctctaccaa 65580

aaatacaaaa attagcctgg catggtggca ggtgcctgta atcccaggct tctcagaagg 65640

ctgagacagg agaatagctt gaaccctgaa cccgcgaggc agaggtggca gtgagccaag 65700

attgcaccac tgcactccag cctgggcaac agactgagac tccatctaaa aaacaaacaa 65760

acaaacaaaa atatattaat tgttttcatt gaatttgttt tctttttatc atgtgtcaca 65820

agatttattg acttcctatc agcatttaaa tgttgttaac tatatgtagt ggtatgtatg 65880

taggttaagg attagtgcac tttcagttgt atgaaggata gctgtattat gttaggcata 65940

attatgacct tattattgtc tttatttgga gttcaagcat gattgcagct agatgtgtag 66000

gggtgctaag ttgacaagag gtgggctttt gatgcttgat actaggtgtc aacttgattg 66060

gattaaagga tgcctacgtg gctgggaagt attgtttctt ggtgtgtctc tgggggtttt 66120

gccagaggag gctgacattt gagtcaatgg actggaaatt tgagtttgtc atgttgcatg 66180

atccttttaa agtcttatag aacttagttg actattattt tggtgtagtt catttgtata 66240

aatatttctt tgaagtttaa ttttcttcct ttgcgtttgt ctgtcactgg caacacggta 66300

attgtagcct tttagaaata gcttagaagg ttggcgactc atcatttttt aaaaaagtta 66360

gagaacagtt ggcatgactt ttttaaattc tgagagccat tttttatcta acatataggc 66420

tatcatgaag aatatttata gtgtgcttga gaagcatgcg tattacactg cgcttggttg 66480

gaatgttctg tagatgtcta ttaggtcagt ttgttcaata gtgttgttta agtccatggg 66540

cttcctaaga atttttttat gggtgttcta tacattattg agggtgaggt gttgaagtct 66600

cctcctttct tattgttttc tatttctcac ttcatatctc ttaaactctt gttaatgcgg 66660

ttatatttct atttttataa ctatgtaaaa tagaaataaa ataataattg cttagtaatt 66720

ttaatgggaa aatcacataa taagaaatta tattttccca aatgctgcca tcaccactaa 66780

actcctccag gagtctcaca tctgctctgg gctctgctct ctcctaaggg gtcccacatc 66840

agagtttgct acagaggagg agacaagaaa atagggccct ccctctcctg atgaaaacca 66900

gccctgccct gaccctgcaa ctctgggaga agatctctag tccagaatta ccaggagttt 66960

ggatttgatg atcagctctg tacaaacatg gctcaccata gagttagggc tgagctgggt 67020

ttcccttgtc attattttaa aaggcgaata atggagaact tgagatatgg agtgtgagtg 67080

gatatgagtg aaaaaacagt gattctgtgt ggcaggttct gactcagatg tctctgtgct 67140

tgtaggtgtc tagtgtgggg tgcagatggt ggagtcttgg ggagagttgg cacaagctga 67200

atgtgcctga gactctgccg tgcatcctct gaatccacct tctgtagcta ctagatcagc 67260

tgaatctgcc aggctccagg aaaggggctg cagtgagtag tagatataat gtacgatgga 67320

agtcagacat aatatgcaga ctctgtgaag gtcagattca ccatctccaa agacaatgcc 67380

aagcacaggt tgtatctgca aatgaacagt ctgagagctg agaatatggc tctgtattat 67440

tgagtcaaag gtaccaaatg aagggacatc agtgtgaacc cagacacaaa atttcctgca 67500

gggaggaggg aggaggctgg gctgcagtgg gcactcagca cacacaaaag gcagggacag 67560

ttccaggggc aggtacaggt gcaggtgaag gcaaaggtct actttccttc cagatctgtg 67620

gattcctctg catccaacag ttcgcctggg cctctgtctt tatggatctg cgcctaccac 67680

tgatgtctct gggttagtaa agtttgctac tataggagga aacattgtca tttgtcagaa 67740

aggcgaataa tggagaacaa aagatattga gtgtgagtgg atatgagtga aaaaacagtg 67800

attatgtgtg gcaggttctg accaaaatgt ctctgtgttt gtaagtgtct agtgtgaggt 67860

gcaggtggtg gagtgtaggg gagaggcaag aggcagaaaa gcgcgcagga ggccgggtga 67920

ggctgtagac attgtcagct cactatgcca atctcacaac agtgctggag aaggtgggag 67980

tctgatggag cttcccaaca accctgtggt ctaagctaag tccattaagg ccgctggttc 68040

ctcctggaac atagctgtcc atcaggaatc ccccatgtgc ccagcagcag ccacgcgtta 68100

gcatcttcac tgtgcacagt cattgtttgg gaggagctcc aggatgggtc tctttgtcaa 68160

aaaccgggtg atggtgtcag agagctgtgc cgggtgcctg gtccaggggc tccctgacgt 68220

tggaggtata ggaggtgcgt tctcagggtg ggaacacctt ttatggaaat gtacagaaga 68280

aaacatgatt ttccttggtc ctctcagatg acatggagaa gaaagcgcgc agcttgcaaa 68340

caattgtaat gtccttgtaa tttcctactt tatcccaagt tcattgattc ttgtaaacct 68400

tggtttctgt ccaagtacag agatattgat tagagtgagt ttggttcttt ccacacacta 68460

accctcacct cccccagata aagagcacat tgtccttact ctgagtctga gggaggagct 68520

gttcctgtac aactaagggc ctgcagagac ccccatgtac agctttgcag agtcagatct 68580

ttccacatgt gaggcgacct ccacggccca tgattgctgc tcaggtctaa ttgtggattc 68640

aggattagga catcctttag gctatcacag gtcaatcaga ttctgaaaaa tcactgttat 68700

catagacaga ggtaataatt caatacccac tcccctgaca gcagattctc tttcttattt 68760

ggttgaaagt ttgaagaaaa taagtgacca tttattattc ttattctaac tttagtatcc 68820

actatttgtt ctaggggatt cacaaatttc aaaacactga gctcttcatt ctcatgaaaa 68880

tgtgcatatt tgtgaatttc aacgtgttgt tcagaacctg tgcatgccga catctgtatt 68940

tctcgtgcgt tcttggcctg gcgaagccct cacagaccct ctccctcatc tgtgctgtct 69000

ctgcttctcc atcacaacca gtgcttcctg ctggagctgg atccctcagc tccccaggga 69060

agggactgga gtgaatcagg tgcacaggtc atgagggaga acacaacgca acccacgcct 69120

caagagtcca gtcaccatct ccagatccac atccaaaaca cagtttcttc tacagctgag 69180

ctacctgagc aacgagtaca caaccatgaa tttttacaca aaagatacag caaggggaag 69240

tcattgtgag cccagaaaca aacctccctg cagggaagct caggaactgc gggaggccct 69300

cgggacacca gggggcgctc aggacacaca tcaaggcagg tgcaagagga aaaggtgctg 69360

gagatggggt ttggcatcat catcatattt cactgacacc cgccactgtg tttattctca 69420

tgtacgtgat tctttgtatt attagaaaat ggcgtttatg taaataaata accatatgta 69480

ggtgcatcaa gtcgtcctct ccctttttt ttttttttt tttttggagt cctgctctgt 69540

cacccaggtt ggagtgcagt ggcgcgatct cggttcactc caacctccgc ctcccgagtt 69600

caagcgattc tcctgactca gcctcccgag tagctggaat tacaggtgtg caccaccgcg 69660

cccggctaag ttttgtattt ttagtagaga ccggatttcg ccatattggc caggctggcc 69720

tcaaactcat gatctcagtt gatccgcccg ccttggcctc ccacagtgct gggattacag 69780

gtgtgagcca ccgcgcccgg cccgtcctct ccatcttatg tggaactttt ccattaagac 69840

tctgagtccc tggatttatt tgagaacctc ataaatcatg gtcaattatg tctctttctc 69900

ctctttctcc cttcttcact cctctctagc tcacaaactg aaacacacac agaattttct 69960

aacttcaatt acctgatgtg ttgaagacaa ttgattaaag cgcagctttt ccagttcagc 70020

cactgttcat attgttgtaa gaataagaac gttgtgtttc tcagctgcgt gcttctctaa 70080

gatgagtagc agcttttta aataataccc agaggctgaa agcaatctga ataccaatca 70140

tcagcttaat cagtaaacac aaggtggtaa attcgctcac tggaaaaaca ccgattgtta 70200

caatcaggta aggctggata ctctcaacag caagtgtaaa ttcacaagta tatatgctga 70260

ttaaaataag acaaacaaat acaagtacat acatactgtt ccacttttac aaattctata 70320

aaatgaatgc taatctaaag ttacataaag aaaaccagta gctgactctg gacctggtgt 70380

gaggagggaa gggttaggaa ccagaaattg taggaaatga agaagaaatg ctgaaggtag 70440

tggagttttt tctatgttga tgaaggtaat agttatgtca ctattaatca aatcgtacac 70500

attatgggat gcctattatt tgtgaatttc accctattaa aatattacaa gttaaaacaa 70560

gtataatttt gtagaaaatt agttagacat agatgaataa aatgtatgat aaataaaaaa 70620

agaaaatcac agaacaatag cataaggact tcactcatca aactgaagaa attttaaatt 70680

tctcaacaca gaattaaaga tttaattaga tatacataag aaatcaaaga ctcctggata 70740

tacacacaaa taaaccctaa gtccacctgt atttttaggg aaacgctaga atacaagaaa 70800

ataatgtcat gatttcatta cataacgggg gttaatgaaa ccacatcagg catgtccagc 70860

tgtgtcctgg ggttggttca gggaacgggt gtgtcctgtg gttaggagac gtggcaacaa 70920

gctcacagca tcagttctag ctgacaccat aaaaaggcca agagatcaca attaaaatgt 70980

catgcggatg tcacatctgt gggtgcggca cactccccca tgtgaatacg gaaaggttaa 71040

ctacactctt caggtgtctg ctgagagtag agctgtctct caggaatgtc caaaatggct 71100

caatagagca agaaaggaga ctggctcagg gttcctgtag tgccttggtg gtgtgggcag 71160

agtgagggtt ctcactcaag aaaggagttt gtggcgtttg aacatctaca tggcttcaaa 71220

tagggtaact cctgtgattc ctaactagat tcacctcgtg tgggaaagaa aggagatgat 71280

gaaggaatga gccttaagtt atcagcagtc agacatcaaa acaatagtct gatgacttat 71340

tctatgtagc acctataaaa atcgttccgg gcgcggtggc ccaaacctgt catcccagcc 71400

ttttgggagg ctgaggcggg tggatcatga ggtcaggagt tcaagaccag cctgaccaat 71460

atggtgaaac cccgtctcta ctaaaaatat ttaagaaaaa aaatagttgg gttatggtgg 71520

tgggcgcctg taatcccagc tactcaggag gctgaggcag gagaatagct tgatcccagg 71580

gggcgtaggt tgtagtgagc tgagatcaca ccactgcact gcagcctggg tgacagagca 71640

agactccgtc tcaaaaaaaa aaaaagagta aaaaaatatc agcccaagat gggtggacaa 71700

caaccaggcc tacaaaaaag gagaagactc cttataagaa taagcaaatc ataatgaaaa 71760

ttaggaggaa aacaaggaga gtgaggtgaa aggcatgggg caggggatta gacaagggtc 71820

ctgttccaat gtcttgtgtg gagacttttc actatctaaa atcatccacc tattctgaat 71880

gtcttaggtg aactgtctgc tccaaaacat cagaaccacc agaggatttt tgaggatact 71940

cagtttaata tcttatattt gaggtgcctt acaactgtgt aaaatgctta gttattatca 72000

gtgtaattag agatagggcc tcactgtgtc acacaggttg gggttcagtg gcacaatcat 72060

agctcactgt taccttgaac ttctggccca cataatcctt ctgtctcagc ctcctgagta 72120

gcatggacta gagaggtgca ccaccacaca cagctgattt aaaaaaaatt gtttcataga 72180

aatggggtct ctctatgttg cccaggctgg tcttgaactc ctggtctcac gtgattcccc 72240

ctggttttgt ttctcaaagt ggtggaatta aaggcatgag ccaccgtatc tgctcagaaa 72300

tgattatttt gttgcaaaat actaacccaa gaattgactc cctgaatttt ctctgcagca 72360

ttttggttaa tagtgtctga taagatttat ttcaatagtt tcaacagcag agtgttctcc 72420

tgatgtttcc tccaatagtg ataatttcat ggttgaagat cacaaactac tattaaaaga 72480

tgacataaaa aggcaacctt aaacttttgg tgatggagtg agtataataa aaaattactt 72540

tcaatattgt gtaacacacg cctgcagtag gaggaaggtg agcaatgagg gtaaaatttc 72600

taaacgtatg aatcttccag ctccccagtc atagggcagt aactgatgag tcctgagaga 72660

gggaacgtaa tgccgtagtg cttgtgggat aactcttggc caagagagtt tccatatttt 72720

attaaagtgg ttataatttt taaatttaaa gatgccattt tttcaacata tccagaatat 72780

tgtgagcggg attgattctg tatgatacga gcaatggcga tgccttctgt ttggataata 72840

ttacaaacca ggttaagact gagtggtgta acgatgcacc agaacattat tctagcttcc 72900

atactagatt ttgtttttct ctttgtttgc attagtttca aatttatatg taaggtctct 72960

agaatgtagg agtttatttg aaagtgtctt ttcttgttgg ccattttgat ggggcttcca 73020

ggagatttaa aaacctcctc tgcctgcagc acagtttaaa attctgcgtt acagtagaac 73080

atctgtattt aatcctggtc tttggttgat tgacaagctc taatacatgc aataacttct 73140

gccttctggg ctggttttac atcaggtaga ggaatatata ctaagtgaaa atttgcacta 73200

gtaatatata ttattaataa ccaccacttg tattatttaa gtgttattaa tcaagaatta 73260

atgttaaatc aagggtctca atggcaatat tacctaaggg atatacaaga tattttgcta 73320

atctaggtaa aatagatgtg aacacactct tagtatccag ccatgtctcc tgtctatcac 73380

attattaacc acacagtaaa ttcacttggg acttgttcta attatctaat tagtcactta 73440

cttatctcaa agcctctgga ttattatgtg tgactatttt agcagagagt gaagaaagac 73500

aacccaggct gaccaaacaa tgaggaaaat cacaacctga tgaaaccaga aacctggatg 73560

tgagtggctc caggattgaa taatttgaca gctcatgtgc ccaggctgtt tcttgtctca 73620

gttttccaca ctgatacatc cagaaaggca gcttcacccc ccagaggact cccatcatgc 73680

tgtgacatgg tgacaacatt cccaaagctc acacacatat gttaaatatt ggctggaaaa 73740

ggggcagaga catttctgga attctcttct gaaggaccat gaatgcctca accaaccatc 73800

tcccctgcct ccatgactag aaatgcacca cgtgcccaca cggatattca tccctcatgg 73860

ggataagact ccattgatga ggctgactat tttatcatat aaaattacta aagactgatt 73920

taagggtttc aaaaactaat tgaactctgt tgttctatgt ccaccagaga ttacaaatct 73980

tccaatgatg ccttctttgt tttttgtctg cttgactttg tctcttcaac ttgttctgta 74040

ccccagagaa tctctttcag ctccctcagg tgcattcaat tgttttattt aactgacaat 74100

ttctaaatca gttaaagaca ttacgctaaa gactccatat tcctaggtcc atattccttt 74160

ttccatattc ctaggaaggc attgtgaccc agagtctggg catgaccttg tgagtgttcc 74220

tgaccctcct ccatatgaga tgctggtctg ggtgttcttg ccccttccc tggggtagag 74280

tcctcctgtt ttccccaggt gctccctccc acagctctag tgttctcaat cagtgtcatc 74340

accttccaga tcttctgccc tgccctgcag actaaggctc tgattccata agcaagatag 74400

gggagctgct cctcaataga tctttggtga ggatctctgt tcccatctca attcctgtag 74460

ggtggaacca gtgttcctag gattctggtt tcagtagctt gtccctgcag agtaaattct 74520

tagttctgta gggggattaa gggagttggg tctgaataca ttttagatgt cgaggatctt 74580

gttctctccc agaaagacac ttcgggaaag taagactttg gtaactgtcc cctttcttgg 74640

ggaaagggat tcaagaggat aggttgcttt tgggcatgtg gtcccttaaa atttcacact 74700

aaaaagcgtt tcccacactc aatttcaagc agcccaatat atatttgtat tttttcttgg 74760

aacagacaat attttatatt ccagactctg ccttaggtaa tttcaaaccc tggctttgtt 74820

actctctaca agaaattgct tctccataag cttcagattt gttgtgtgtt ttgaaatttt 74880

atcagaaata ttaaagaaaa ttggcaaaat tccatcctcc atgtttatct gttattgttg 74940

atgcagttgt aaaaaataag aaaaatatat tccttttttc tgtacatttc caagcttagt 75000

agcaaatttt tagtaacacc cagaataata aaaaattcaa atattgttta gctgcttaat 75060

aggaaaacaa attatagtaa atttgtttgc tagaatgcta cccagcattt ataataagta 75120

aacatttgat atacccaact acaaggtaaa atatccattt atgctaacta aaataagcca 75180

aacaaatgag aatatatact gttatttcat ttttataaat tctgaaaaat taaaatgaat 75240

ttgcagcaat gtaaagatca gtagttgcca gggaaatggt agaagaaaga aaggaaaagg 75300

agaaagaata cagaagaaca aaaggaaatg ttaagaattc tcttgtccaa cttgataagg 75360

atgacggtta catcattttt atcaactgta atctttaaat atgtgaaagt ttattatctg 75420

taaactaaac gttataaact ttattacaag caaaaattga aagttagaca agaaggagtg 75480

atagaaagag aaaatgtata ttaaatttca gaaatattta agaatgtatc tgcctgaacc 75540

ctagttctca ccatatcttt aggtgaatgc taaaatgcag caaaatcacg catgttctca 75600

ctacagaaag tgggttctac aaaccacact cggcacattt agctttgtcc tggagttggt 75660

gcagggagtt attggggcca gtgatgagga gcacaggcca agataccagc gattacttat 75720

cccaaacatg agctctaaca tacacactta gtccctttc cgtgtgtggt ttacttccac 75780

atctgtacat ggagagacca ctgactgaca aaatataatt tatacaaata tgtaaaatta 75840

aatagggtga tcagttcaag gtgtttatca cagcataatt ttacaataag acagcatatt 75900

tcccaaatac catcattgtc accaaactcc ttcaaggcac agtcatctta tctgggcccc 75960

gtcctctcct caggtgtccc accccagagc ttggtatata gtaggagaca tgcaaataag 76020

gccctccctc tgctgatgaa aatgagccca gccctgaccc tgcagctctg ggagaggagc 76080

cccagccgtg agattcccag gagtttccac ttggtgatca gcactgaaca cagaccacca 76140

accatggagt ttgggcttag ctgggttttc cttgttgcta ttttaaaagg taattcatgg 76200

tgtactagag atactgagtg tgaggggaca tgagtggtag aaacagtgga tatgtgtggc 76260

agtttctgac cttggtgttt ctgtgtttgc aggtgtccaa tgtgaggtgc agctggtgga 76320

gtctgggggа ggcttggtac agccagggcg gtccctgaga ctctcctgta cagcttctgg 76380

attcaccttt ggtgattatg ctatgagctg gttccgccag gctccaggga aggggctgga 76440

gtgggtaggt ttcattagaa gcaaagctta tggtgggaca acagaatacg ccgcgtctgt 76500

gaaaggcaga ttcaccatct caagagatga ttccaaaagc atcgcctatc tgcaaatgaa 76560

cagcctgaaa accgaggaca cagccgtgta ttactgtact agagacacag tgaggggagg 76620

tcaatgtgag cccagacaca aacctccctg caggggcgca cagagccacc agggggcgct 76680

agggaccgcc tgagtacggg acaggtccca ggagcaggtg caggggggagg tttccttttt 76740

ccttggctgg aaaagtcacc tttatcttcc cagggctcga gccttctagg ctgtgatatt 76800

ttattacttg tatttactgt tcatttatta tcattagttt ttaaattttg gtaattttta 76860

caactctatg gatatatttt taagtgtata ctttcaagaa ataaacattc ctaattattt 76920

gcactgattc tcccagagtt ttattaacat ttgttgacat cagcaactac atagctatag 76980

ggacaaacac ttttaacgat agacagttgt ttaggcctga aaccccgttt atactaaaaa 77040

tttacaaaaa ttagcctggc gtggtgaagg gcgcctgtaa tcccagctac tcgggaggct 77100

gagcaaggag aattgcttga atccgggaag cggaagtcac agtgagtgga gtggactgcc 77160

actacactcc agcctggcga cagagcgaga ctttgtatga aagaaagaaa agaaaaggaa 77220

gaaaggaaga aaggaaggaa ggaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaagg aaggaaggaa 77280

ggaaaagaga gaaagagaga ggaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaagg aaggaaggaa 77340

ggaaaagaga gaaagaaaga gagaggaagg aaggaaggaa gaaaggaagg aaggaagaaa 77400

agaaggaaag aaagaaaaaa gatatataaa cacgcagacc tatgcatata accataggga 77460

tttatattaa acattacaat aaaataattc taaaaatgtg tcctaaggaa tcaaacataa 77520

tgatgaagta aatataaatg ttagagtaat ttataattga tttgttattt ttaatcgttt 77580

acatgaattt atttctattt gttcatttaa aagtagtata ttggtcattt caagagagct 77640

aacagtaaat ttcagatgtt gttgttacga tatatgataa gaatttgagg tggtgaatga 77700

taattatctt atttctcaat tatcttagtt attccatatt gtattcacaa atcataacat 77760

tgcttcttac cttataaata taaacaacca taatttgtga aattacaata attttcttta 77820

ttttaatttt ttaatttatc ccagatcatt atctttttct tcgcttccag atctcactgg 77880

atcatctcga gggcccatcc tcacccctgt ctcccgaaga cttctggaga ggctgcagga 77940

cgggcagaag gaggagcccc gtgtgagtcc acacgacctg gagcctccct ctccttggat 78000

taggccatct cctcgggatc acagggctct tcattatcct taccccgctg ttgtaccaaa 78060

caagcaacat cacacttcaa ttcatcaggg tttgctttaa ttttctaaat catcgtgaag 78120

gtgataattt taacagtaac gtatcacaac caaataggat aagccctttt ccatggaaca 78180

gggtttctta tcaggatata catgtattat ggattctcaa tttatttgta gatgagatgc 78240

tattatctcc atattgtaga tgattctgct aagtcatctc ttaaaattaa tttttccaaa 78300

gactcaaaca aataaatgat ataattacaa atttcaggtg taatagctga gccaacattg 78360

agattatatt aacatttaga acatgaactt gcaaatattg ttattttcct gtcggctgtc 78420

cccaattgtg attttataca gaatattaga aatttatcct gataaatcag gttaaaatat 78480

tatatcacta gtttattaac ttttataact aataatataa aatgttccac atatttttta 78540

gccatgtttt acttacccgt gatatgtgta tttattaatt tttcatttta agatgccacc 78600

tttatctttc ttatttctgg gattttattc tagtagatag agctgaatgc attttaataa 78660

ttatcataat aatcacattt acattttgca ttttaatttt catatacatt ttattaatat 78720

tttaatttca atataaaata ttttcctaca aatgtcaatt tttgattttt atgagataaa 78780

attaacctat acaaaataca tatattttca atgtacagtt tgagggtttc tggcaaatgt 78840

gcacacattt gtctccagca tctaagttat gatgaggagc aggtccatct ccacaacaag 78900

tgtcctcttc ggtgcttcca gtcagctctc acataaggaa tttttttttca aatttaatat 78960

agatacagag ggtaaatgtt tggatttgtc acgggggatt attgagtgat gctgaggttt 79020

ggaatacaga ttcccaccga cctctccctc ccactctcca gcagtccaca gtgtctatca 79080

ttctcataat tatgtccatg tgtgctcaat gctgaggtct tacttaggag aatatgtggt 79140

attcagtttt ctgctcctac attaatttgt ttaggattaa gggccccagc ttctttcatt 79200

ttactgcaaa ggacatgatt tcattctttt tcatggctgt gtagtattat acattgtaga 79260

tgtaccgcat tttgtatatt cagtctacca atgatgtgca tctggtttga tctatgtcgt 79320

tgccactgtg aatagcacag caatgaacat agatgtggat gtgtcttttt ggtagaatta 79380

tttgcttact tttcagtgta taccccgtgg tgggattgct gtgtaaaatg atatctctgt 79440

tttaagttct ttgagaaatc tccagtctga tttccaaagt ggaaacacca atttatattc 79500

ccctcatcag tgtatgtgtt ctcttttctc cacagtccca gcagcatcca ttgtttttg 79560

acttttttagt gataaccatt ctgagtggtg cgtggctgca cacctacagt catctcatct 79620

ttgataaggc tgatgaaaac aagcaatgag gaagggactc cctgttcaat aaatggtgct 79680

gggacaactg gctaggcata tgatgaagat tgaagctgga tatctacttt caacatgtat 79740

aaaattaaca caaaattcat taaagtttta aatgtaagac ctcaaaccat aaaaatcctt 79800

gaagacaacc taggaaatac tcttcttgac atcaggtttg acaaaaaaat gttggctgag 79860

tatccaaaac caattgcaac aaaaagaaaa atagacaagt ggggcctaat taactgagga 79920

gctcctgctc agcaaaacaa acaaagaagc aaacaaaact aacagcacag tactcagaca 79980

acctacagaa tgtggaaaga tattcacaaa cgttccatcc aacaaagccg taatatccag 80040

aatctatagg gaaattaaac aaatcaagaa gcaaaaaata ataataataa taaccccatt 80100

aaaaatgggc tgatatggtt tgctgtgtcc ccacccaaat atcaacttga attgtatctc 80160

ccagaattcc catgtgttgt gagacggacc caggggggagg taattgaacc atgggggcct 80220

gtctttcccg tgctattctc ttggtagtga ataagtctca ccagatctaa tgagacttat 80280

caggggttta tctgatgggt ttatcagggg tttccgcttt tgcttcttcc tctttttctc 80340

ttgccatcac caggtaagga gtgcctttta cctgccaccg tgttttggag gccttcacag 80400

ccatgtggaa ctgtaattcc aattaaacct ctttttgttc ccagttttgg gtgtgtcttt 80460

gttagcagtt tgaaaatgga ctaatgcgtg ggcaaatgac acagacactt ctcaaaggaa 80520

tacatacaag tgaccagcaa atatattttt aaaatgttta acatcactaa tcatcagaga 80580

aatgtaaata gaaaaatgtt ctgatttctg tcactatagg tccattttct tgttttgaat 80640

ttcatataca tggaataaaa tattatagct catttttgta agaagctttt actatctgtg 80700

aggttcattc atgtgatagc atctatcaag gttttgtcaa catatgtata aatatgtatg 80760

tactcataca catatagata tttcatatct gaatcagtcc attgcattaa taaatgacag 80820

attattaaat aaatcagttc attaagtgaa taagtgacaa tatgtatatc tattttcctg 80880

ttgatggaat ttaaatttgt ttccaatata aatatcataa acaaaactgt catacatatc 80940

tttgtacaag ttcttctgtt tatattcaca tatttttatt gataaaatat gttgaaatat 81000

aagtatgcat tatacctttt cagctttatg gagctatcac tgacaaataa aattttctgt 81060

atttaaggta caccaattga tgtattgata ttcttgggga aatgctcata atgatcaagg 81120

taattggcat gcctatcatc tcagagagtt aacattttat gcctttaatt tattgtgtat 81180

gtgtgatgaa atcacctaat atctacttgt ctggcaaaag atatgtttat aatgcaacat 81240

tcattagtat agtcacattg ctgtaggttt gatctccaga actatttcaa cctgtgtatt 81300

agtccattct caccctaatg taaggaacta cctgagactg ggaaatttat ggagaaaagt 81360

ggtttagttg actcacagtt ctgcaggctt aacagcaagt attactagga ggtatcagga 81420

aacttacagt catcacagaa agtgaagggg aagcaaggac cgcttcacat gctggcagga 81480

gagagagaaa gagcaagggg agatgcacca ccctttttaaa ccttgagatc ttgtgagaac 81540

tctgtcacaa gaacagcaaa agggaagacc gcccgcatga tccaatcact ccccatcaga 81600

cacctgctac aacacttggg gattaaaatt tgacatgaga tgtgggtgaa aacacagagc 81660

caaaccatat cattccaccc atggtctatc agaaatctca tgtccttctc acattgcaaa 81720

atatcattat gccttctcaa cagtcttcca ggcttaactc atttcagcat tatcacaaaa 81780

atctatagtc taaagtcacc tctgagacaa ggtaaatttc ttccccctat aaacctgtaa 81840

aattaaaaag aagttagtta tttccaagac acaatggaga tgcatgtact gggtaaatgc 81900

tcccattcca aatgggtgtc attggccaca gaaaaggggc tacaggcccc atgcaagtcc 81960

aaacaccagt agggcagcca ttaaatgtta aagctacagc ataatttcct tttaccccaa 82020

gtctcacatc caggacacac tgatacaagg gttgggctcc caaggcctta ggaagctcca 82080

ccctgtggct caacgtggta cagtccccat gactgctttg ataagctggc attgagtttc 82140

tatggcttta caggcacacc atgcaagctg ttggtggatc taccattccg gggtctggag 82200

gaaggtgccc ctcttctcac agatccacta ggcatctagt gcctagtgcc cagtgggtac 82260

tctgtgtggg agatccaaca ccacattttc cttccacact ggcctagtag aggtactcca 82320

ttagggctca gccctgcata agacttctgc ctgaataccc agacattttc atacgtcatc 82380

tgaaatctaa gaggaagctc ccaaacctca actcttgcct tatgtgcacc cgcagactca 82440

acaccacgtg gaagcaacca aagcttaggg cttgcaccct ctgaagcaat ggcctgagct 82500

ggaccttggc ccctttagcc atggctggca ggagagggac agggatgtcc caaggctgca 82560

cagagcagtc gggtcctggg cccggaccat gaaaccattt ttctctactg ggcttctggg 82620

cctgtgacgg gagggaccgc agcaaagatc tctgaaatgc tctcaagatg tttttcccat 82680

cgggttcctc attacttatg caaatttctg cagcccgctt gaatttcttc ccaggaaatg 82740

gattcttctt gtctaccaca tggtcaggct gcaatttttt tcaacctttt atgatctgct 82800

tccctttaa acataagttc aaatttcaga ccatctctta atgaatgcat atgacttaca 82860

ttttcagaaa cagccagggc aaacattgaa tgctttgcta cttagaaatt ttttctgcta 82920

gataccttaa gtcatctctc cctagttcaa cattgcacag atctctaggg caggggcaaa 82980

atgccactag tccttttgct aaagcatagc aagtgtgagc tttactccag ttcacaagaa 83040

gttcttcatc ttagcatctg agaccacctc agcctggact ttattgtcca tatcactatc 83100

tgcattttgt tcaaaaccat tcagtaagcc tctagaaagt ttcaaacttt tccacagctt 83160

cctgtcttct tgtgagccct ccaagcttta ccagcctctg tccattaccc agttacaaag 83220

tcacttccac agttttaggt atcttaatag cagtgcccac tcctagtgca aattttctgt 83280

attagttgat tctcacactg ctgtaaagaa ctacctgaga ctgggtaatt tatgaagaaa 83340

agagtttagt agactcacag ttcttcaggc taaacaggaa gcattactgg gaggcatcag 83400

gacacacaat gatggccgaa ggtgaagggg attcaaaaat cttctttgca agatggcagg 83460

agagagacag caagggagac gggaggtgcc acacttttaa accatcagat ctcttgagaa 83520

ctttatcagg agaacagcaa agaggaaggc caccccatta cccaatcact ttatattagg 83580

cccttccttc aacatgtagg gattacaatt tggcatgaga tttgagtggg aacacagagc 83640

caaactgtat caacctgcat aactgaaagt tataacctct gaccaacatc acccaatttt 83700

ttcctcctcc cagcccctgg gaactactat tctactttgc ttccaagaac atgaatattt 83760

tagattctac atataaatgt gttcatgcaa catttgactc tctgtgtctc actccactta 83820

gcaaagtgtc ctctatgtgt tgtaaatgtt agaatttcct cgtttttaaa ggcagaataa 83880

tattcacttt taggtaggaa taagccacat tttatctgtt gattcataga tggacattga 83940

cctattttct atatctaggc tattatgaat aatctcacaa taaacatata tttgtcacac 84000

tcactttatt ttctctagat gtatactcag aagtgggtat attctatgtt caattcattg 84060

agtaatcttc atgctgtttt ttcataatgg ctgtactaat ttgcattttg ttccaaacca 84120

tacatggata actttgtacc acatattcag gtctttgttt aagtcttaaa tccattttta 84180

gctgatttat atgtattgtg tgagataagg tcaatttttt ttcttccgca tatggatgcc 84240

cagttttcac agcacttgtt gaagagactg tttcttctct attgtgtgtt cttggcagtt 84300

catcaaagat cagtttattg ggaagaaatt ggtggacttc cagattgtct gtaatgttct 84360

gttggattct atgtctgttt aaatgtcagc attatactgt tttgatttac atagatttga 84420

ttttgaaatt atagaatatg atatattcag ttatatttta cccaaaatta ttttggctat 84480

ttaaagcttt tgtattttta cataaattgg agaacttttt aatatttttg taaaaccatg 84540

ccatggagat tatatattta ttttataggc atataataga tatacctaat ttatgggaac 84600

atgtaatata ttgatgcatt tataaacgtg taaagatcag atcaggattg gtatatctat 84660

cacattaaac gtgtatattt tctttatgct aggcacattt gaacgactct cttctggcca 84720

ttttaacgta tacattagat tatcgttaac tatagtcacc ttactcatct gtcaaacatt 84780

taggttgtat ttctcctata taactgtata tctgtcttca gtaatcatct tctctttatc 84840

ctcttctctc ttgtatccaa ccaggcttct ggtaaacaac aatctactct ctgtcttcag 84900

gaaatccaat gttttagttg tgacataaaa gtaagaagat gcaatatttg tctttctgtg 84960

tttggtttat ttaacttaac attatggctt ccacttccat tcatattgtt gcaaatgaca 85020

agatatcaac atttatggct gaataatatt ctattgccta catcgattat atttttatat 85080

ccatttctcc acctacagac actgaggttg ctttcatatc tgggctattg tgaatagagc 85140

tgcaagaact tggagtgcac atgcctttat gaggcagtga ttttatcttc tttagaacat 85200

actcagaata ggatttgctg agtcatcagt tatttctatt tttcttttat tttggagtct 85260

tcatacaact ttgcacaata gtggaaatac aaacggaaaa accattataa aaagcagttt 85320

cagttttgag gtatgatcca aaaacacaca acatttcatc atgattctca ttgggagtct 85380

ctaatgaatc tggtggaaag gcaggaagtt ttctaacctt gttaagaaaa ttatgagttt 85440

gcacctttt ctttttgagg ctggaaattg gcatgattca agatgcgtaa tgttagcagg 85500

tttcagaatg atacagcgaa aatcataatg agaaggcaag agagagaata agagaaagac 85560

aggaaaacaa agaaacaaat aaatttcaca agagaagaaa ctgctggatg tcagtgttgg 85620

gttttgttcc tagacatatc tgtactgagt gagaaaccat gaagccaagg gaagagtcta 85680

gaacttgttc aagtgaagca tcagcatatt tctccaaggc acctattgtc accccatcac 85740

aagggtgatg agtttttgaa taccattaaa tatgagttcc tagtaagtaa tcatgtttcc 85800

atgaaattca gttaaaatgc aaagggtgtg tccagatcac tcacgcacaa aaatacaaaa 85860

tttgcctttg catttatggc tgcatagagg taaagtccat tgagacttca gcaggttaca 85920

gagatctgtt aagttttgga ttcccatagg agagtgcctc ttagtgaagg ttggactatt 85980

aattaagtat gtacaaattc cctctatggg agtagtgttc catttgtgtg gaatttttaa 86040

ttccttattg aattgcaaaa caaatcccaa ggactgactc catggagttt tactgtagtg 86100

ttcataaaaa tatttaataa gattccttcc agtgtttcaa ggaaagtttt tctctaaaat 86160

tttttctaat acataaattt tcctgcctaa aattgaaaca ggctgttgtt aaaaagacat 86220

actggaatgg cagctttaat ctattggtga taggaatgag cataatacat gaatctcttt 86280

gagtgttctg cctcatccaa atactgtatg gcaaaggcta gtactggagg taaaatctct 86340

aaatgtattt gttccagcca tcaagtcatg gggcaataac agatacatcc ttgaggcaga 86400

ggaccataat gccacagtgc tagtaggagt acatgtcgcc aagggagttc aagggttcct 86460

taaaattgtg ataattttaa tgtaagaaca ccttattaga gacagggttt cagcatgttg 86520

accaggcttg gtctagaact cttgacctct tgatctgccc gccttggcct cccaaactgc 86580

tgatattaca ggagtgagtc actgtgtcta gccagtccat ttattttctt ctgcacatgg 86640

atacccataa acttatgtgg aagattgtgg gaggttataa cagtgtcata ctttagtatc 86700
agccatacct cacagaatca ttttataata gttcctttca tgggtgtact tcactcagtt 86760
catgcaaaac ctggcaggtg acaggctaaa aacacaaaat accgaagcgt ttaaccaact 86820
gaaagggctg tagccttttg tcaatgaatt atttcaagac acggagaaca catatagatt 86880
ataaataaaa tactttcaca tcccccttaaa ggtggaaatt gaggaaattt tacctaaatg 86940
tgtccaaagg gccctgtggc ttggtttctg tctaggtccc aatgataggg ttctcccagg 87000
attttgtggc tgtcttgtta cacttcatca agaattaacc tctgctgttt cctcaaagtg 87060
tttaattgga taatgaattt gtctataaat tgaagagttg aaatacatca aatattaatt 87120
tgtaataatc tggcacaaat tatctaagca aattcaataa ctagatgttt tttcatttat 87180
ttttatttaa aatcaggatc taagcactga tatgctttaa taacatctgt gaccctctca 87240
gcagttttct cttctgagta tatgatctgc tgtggcagtt ttcttagctt caatgttacc 87300
tcttttggca atgactaccg tctttatatt tgccaggaat ctgggataaa ggagtgcttc 87360
taagagttcc ctaacttgcc cattttggtg ggtgttccag aacatatgag atgctctgtt 87420
gttaacaaag catcccaaag ccatgcactg ccctaaaatg tgtttgtttc ctagtttgac 87480
aaattggaag ttctaataaa tacaatcact tctgccatct gggctgattt tacatcagat 87540
agagggctgt attccaaaga aaagcttaca ttagtaatag caattctagt cagaaaccta 87600
gagttttatc attgaggtgc aattcataac aaataatatt aggtcgaggt tctcagtggc 87660
agtgtctaaa tctcttaggt gtacagggtc ttccctgtta acatgaagca tttataagca 87720
cagtcatagt ttccagctat gcttctccct gtctcattat caccacaaac tatggcctca 87780
cctggaactt gggttaattt ccaaataagt aatttttag tgtttatgcc tctagattat 87840
tatgtgagaa agttaacatt cagtagaaag ttaaaaagaa catttgaact gactaaacaa 87900
cacagacaat caagaataaa attcaaagcc tagatgtgag aggctccagg cctggataat 87960
gcaatagttc atgtatgcag gcagtttctt tgcccagttc tacactgata cacccagaat 88020
gtcagcttca tgccagattt gactcctatt atgtagagac atggcaatac attctcaagg 88080
gtcacatgaa ataatatgaa aattggtggg aataggggag gagacaactc tgcaattctc 88140
atctgaagga ccaggaaagc ctggacagac catctcccca gcctccgtga ctgcaccacg 88200
tgcccacatg gacactcatc cctgataggg taagaagact ccattgatgg ggctgagcat 88260
tttatgatag aaattactag agactgacgt ggaggtttca acaactaata tttataacca 88320
aaatttaatt acccccacat tgttaccatt ttcttcagtg aaaaattgct tgccatgatt 88380
aagttttaag tagatttcca atgttcacaa ctgagcttcc aagagagtct tgagaacaaa 88440
aacaatgagg gcagagaaat ctacctttc tgtattcacc actaaactca agtggactca 88500
gcactgcctt tgatcactgc tacttctctg cagagttcag gtttctactt ctcacaattc 88560

tgacacacat tctacctctc ctcaaatgtt tggcctctgc ttcttgtaag gtcaccctct 88620

gttcttaact tcttctctga gtcattttgt gaggtggtca tgagccatta aatggatatt 88680

ttatattttc ccaacatgaa tcacatgagt ggtcatgaat tatacttctg attatggcag 88740

ttgatttttc ttggcatgtt catgactagt aatatttgaa gccatttcat tcaaatcttc 88800

ggggcttcgt ttttgttgct atgacatttt ttcttctatt gagtctttcc actagtatta 88860

taacatgacc tagtatccag gctcagttgt cattaataat aaccacatat gtcaaaaatc 88920

atgcattctt ttcacagcag acataatttc ctcttttctg cagatgaaga cacactgctg 88980

agctaccccc acttacaaga atatatgcac aattatgata tcttcattta tttgactaat 89040

aagctatatc attctccctt caaattcttt acccccccaga agtcctggac aaatttctgc 89100

atctgctcaa acgataaact cagaactaca tggtgagtaa aagtcacctg gttctggata 89160

ttgggtccat ctcttcccct ccaatgtccc agagcacctc agcacacctg tccaggttct 89220

atcaagaaag agtagctcct gcacactgaa ggaaacaatt gagttaagag aggacctgca 89280

gatgatagac aatattgaaa actattaata tgacaaagga ttactaccaa gcatgtgaaa 89340

taagctcaac gggtgcggtg gttcatgtct gtagtaccag caatttggga ggcaagttgc 89400

gcagatcacc tgaggttagg agctcgacac cagcctgacc aacataaaga acaccctgtc 89460

tctactaaaa gtacaaaatt agccgggcat ggtggcatgc gcctgtaatc ccagctactc 89520

gggaggctga ggcaggagca tcacttgaac ctgggaagtg gaggttgcgg tgagctgaga 89580

tggcaccatt gcactccagc ctgggcaaca agagggaaac tccatctcaa aaaaaaaatt 89640

acaaaaaatt agctgagcgt ggtggtgggc gcctgtatac ccagctgcta gggagactga 89700

ggcaggagaa tggcttgaac ccaggaggtg aaggttgcag tgagctgaga ttgcgccatt 89760

gcactccatc ctgggcaaca agagtgaaac tccatctcaa aaaaaaaaaa agagacttgc 89820

aaagggcaaa tagatcatag acagacagat agatagatag acctattagt atacatacat 89880

acatatatat acactaatat tcaggaaaat gcaaattcat aatgagatgt cttttcaccc 89940

ttcatctctg ctagaaagtt tgttatctga aaaacaaata catacataca tacttattaa 90000

aagctggcca ggatgcctag aaagtaaaac tcatagacca ctggtggaaa tgtaaattag 90060

tgcagccatc aagggaaaaa aatagaacta ccatatattc cagcaatcca actgctaagt 90120

atatatctat ttaaatattt aaaagaaaaa actaatattg aagagatacc tgtacaccca 90180

tgtttattgc agcactaatc acaatttcta agatatgaaa tcaacatatg tgtccatcaa 90240

cagatgaatg gatacataaa atgtgatata tttacacaat ggaatattat tcagccttaa 90300

caatgaaatt ctgccgtttg aagcaacatg gatggaatgg gacaccacta tgttgagtga 90360

aatgagtcag acacagaaaa ataaataccg catttctcag cgttacttct agaagtaaat 90420

agtagagtag tggtgatgag atgccaggaa tgagagaagg ctgagataag aagaggtttg 90480

ttaacaaaca cacaattaca ggtagacagg agggatgtgc tctagtgttc tacagcacag 90540

tagggtgact acagttaaca atatattgta cgttttctgt ttacaagaag ccagaagaga 90600

gaattttcta tgctaccaac acaaataaat gttagtgtct gaactgacga atttgctcat 90660

tgttctgatt ttggtcatac caagtggcac acatgtattc aaatatcaca ctgtatccca 90720

taaacataag cagttattat gtgccaaatt tgaaaaatcc tttaattaaa aagaattata 90780

ttggcgtaca ttacaaatga ttcaacacag agacaggaat aaataccatt tttctttgaa 90840

atagttaatt aactaacaat gtagttacat tcatttgcac caaatcgtgt atttgataat 90900

ggtatgcata gacagattta tgcataggat aatatctttt aattttagac tactacttaa 90960

tactataaat ataaataatt ttaaaacaac taagtaaaaa gaataaagct gagaaaatgt 91020

gtgtgtggtg tgtgatgtgt gagctttttc ttgtgcacca ctgtgtcctt ggtggatgtg 91080

tggttcatgt gtttgttttt atttactctg tttggggttc tctttgcttc taggatctgt 91140

agttcagttt ctttcacaaa attgggaaca ttcttcgcta ttatcttttt caaatagttt 91200

ctgtgtattt ataatttctc cttctcagat ttaaaatata cacatactat aattttgata 91260

ttaatgttta gtttctttct tcactctctt ttcgtttgca atttactttg tgaaatttct 91320

agtgacatac taatcacatg gttttattga aaagctgagc cagctctact gaggtgtgtg 91380

ccaaaagatt gctcgatgtt tatacagcat tgcttttgat ttcttatgca tttccatttg 91440

atttattctt agtattttca tatttcagtt ccctatctat gtccacgatt tctttaagag 91500

attcttgcgt gtgaattata gttactttac atatcttgtt taattagata tttataatat 91560

ctgtttcatc tacaaatctc atgctgatca tttgtttatt acaactttgg tacttctcat 91620

taatgtatgt aataattgtt gatagccaca gatactggga tggacagtgg atactggcct 91680

tattatttca ttttatgcat ttctgcctgt atttgaccac actttacctt tgccaggcct 91740

ttactgtgga agtatctgtg aatcttctca gaactatatt tgacattcac ttttgcagtg 91800

gacatcaaag ttgaagtctg ttcttctgtg tccaccagag acttcagttc ctccagtgat 91860

accttgtttt tctttcctgc ttggctttgt ctcttcacct gttccctcct ccagagaatc 91920

atgttcagct ccctcaggtg gattaaaatg ttatttaact gacaattgtg aaattggtgg 91980

aaagcaatag aataaaggga gattttctga cctttcttgg gttcatattg tgaacatgag 92040

tctgggtgtg accttcccaa tgtttctgaa cttcctccag atgagatgtt ggtctgtgtg 92100

ttcttgctct tttccctgct gtggagtcct cttgttttcc ccagttgttc cctcccgcag 92160

ctccaatgtt ctctttttgt gttatcacct tacagatttg ctgactagaa ctgcagatta 92220

aggctctgat taaataagaa ggaggggaga tacttctcaa tggaacttag gtgaagacct 92280

cttttcccat ctcagttcct aagggattgc ccagtgccct aagatactgg tttggtggct 92340

tgcccctcca gaataattct ttgttctcca gtggggatat ggaaggtggg tctgaacact 92400

tttcagaagg gtgggcactt tttctctcct agacagacac aatgggacag aacaattttg 92460

gtgactgtcc ccattttggg gaaaaaggat tcaataggat aggaaaactc ttcagtctgt 92520

ggtcccttag aaattcaccc tacaacacat ttaccacact tgacttcaag aaatccaata 92580

tatatgtgtg ttttcatctt gtaatagcct acattttaca tgccatactc tgcctcagtt 92640

cagctcatac cccagctttg ttactcttta caagaacttg cctctcccta gatttcacat 92700

ttgctgttta tcttaaaact tcaagtatct aaagtattat ttttaaaaaa tggccagttg 92760

tggtggctca cacctgtaat cccaacgctt tgggaggctg aggtatgtgg atcacctgag 92820

gtcaggagtt tgagaccacc ctggccaaca tggtaaaacc tgtctctact aaaaatacaa 92880

aaaaaaaaaa atagcttggc atggtggcag gcacctgtaa tcccagctac tcgggaggct 92940

gatactggag aatagcttga acccacgagg cagagtttgc aagtcgtacc attgcactcc 93000

agcctgggcg acagagtgag actctgtctc aaaaaaaaaa attccaaaat tccagctcct 93060

ctgtttatct atttttgttg atactgttgt tgtaaaacat aagtaaaata tattattcat 93120

ctatgtacat ttccaagctg tgtagaagaa tttttaataa gacccagagt aaaaaaagaa 93180

tgcaaatatg taggggccag ccctacaggg tctgtggatc tttctcccca tgtgcagaga 93240

tgagagatca tagaaataaa ggcacaagac aaagagatag aagaaaaaac agccgggccc 93300

aggggaccac taccaccaag acacagacta gaagtggccc caaatgcctg gctctgctgt 93360

tatttattgg atacaaggca aaaggggaag ggtaaggagt gtgagtcatc tgcaatgatt 93420

gataaggtca tgtgggtcac gtgtccacca gacagagggc acttccctgt ttggcagccg 93480

aggcggagag agagagagga cagcttaggt cattatttct tccattctct tctcagaaag 93540

atcaaagact ttaatacttt cactaattct gctactgcta tctagagggc ggagcaggtg 93600

tacagagtgg aacatgaaag tgaaacagga gtgtgaccgc tgaagcacag catcacagag 93660

agacgtttag gcctctggag ggctgcgggc aggtttgact gatgtcaggc cttccacaag 93720

aggtggtgga gcagagtctt ctctaactcc cccggggaaa gggagactcc ctttccaggt 93780

cttctaagta atgggtgcct tcccaggcac tggcgctacc actagactga ggagccctct 93840

agtggccctg tccgggcgtg acagaggctc acactcctgt cttctggtca cttctcaccg 93900

tgtcccttca gctcctattg ctgtatggcc tggtttttcc taggttataa ttgtagagca 93960

aggattatta taatgttgga ataaagagta atgctacaga ctgatgatta atgatattca 94020

tatataaaca tatctataac ctattactag tacaactatt cttattttac atattctctt 94080

cattacacta gaacagcttg tgccctcagt ctcttgcctc agcacctggg tggcttgccg 94140

cccagacaaa tattgttaag cttcttaata gaaaaacaaa ttatggtaaa tgtgttcact 94200

ggaatactac ccgtcattta taataaatta atgcctgata cacagagcaa caaggtaaaa 94260

tatctaagta tttatgttga gtaaaataag ctaaacaaat aagaatatat actatgtaat 94320

ttcattttta taaattctga taaataaaaa tgcatctgaa gtaaaataat gaagataagt 94380

agttgcctgg ggaaatggta gaagaaggga gggggagagg aggaggaata cagcagaaca 94440

aggggcaaat gttgagaaga attcacttgt ccactttctt gataatgata gcagttacat 94500

cattttatt agttgtacat tttaaatatg tgaagtttat catctttcaa ttaagcctca 94560

taaaatgtct tacaagcaaa caaatggaaa cttagacaag gaaagagtaa tagaaagata 94620

gaaaaaataa gttcaatgtc agaagtacct gaaaattaat gtgcctggat cctagttctc 94680

tccatatttt cagaagagtg ctggagggca gcaaaaccac acatgctctt attacggaaa 94740

gtgggttctg ataaaaacac tagacacatc cagctttgtc ctggagttgg tttaggggga 94800

tgtcagagac agtgatgaag agcacagggc cagataccgg ggttcactca tcccagacat 94860

gagctcctag atgcatacag agccccccca tgtgtgggtt tacttccact tctgtaaatg 94920

gagaaaatat tgtctcctac agaacatagt ttacatgaat atttaaaatg aaatagggtg 94980

attagtgcaa agtgtttatc acagcacaat ttcataataa gacagcatat tttccaaatg 95040

caatcattgc cagcaaactt ctacagggca ccgtcgtctt atctgggtac agcctactcc 95100

tcaagggtcc caccctagag cttgctatat agtaggagat atgcaaatag ggccctccct 95160

ctactgatga aaaccaaccc aaccctgacc ctgcagctct cagagaggtg ccttagccct 95220

ggattccaag gcatttccac ttggtgatca gcactgaaca cagaggactc accatggagt 95280

tggggctgtg ctgggttttc cttgttgcta ttttagaagg tgattcatgg aaaactagag 95340

agatttagtg tgtgtggata tgagtgagag aaacagtgga tatgtgtggc agtttctgac 95400

cttggtgtct ctttgtttgc aggtgtccag tgtgaggtgc agctggtgga gtctggggga 95460

ggcttggtac agcctggggg gtccctgaga ctctcctgtg cagcctctgg attcaccttc 95520

agtagctata gcatgaactg ggtccgccag gctccaggga aggggctgga gtgggtttca 95580

tacattagta gtagtagtag taccatatac tacgcagact ctgtgaaggg ccgattcacc 95640

atctccagag acaatgccaa gaactcactg tatctgcaaa tgaacagcct gagagacgag 95700

gacacggctg tgtattactg tgcgagagac acagtgaggg gaggtcagtg tgagcccaga 95760

cacaaacctc cctgcagggg tccgcaggac caccaggggg cgacaggaca ctgagcacag 95820

ggctgtctcc agggcaggtg caggtgctgc tgagggctgg cttcctgtca tggcctgggg 95880

cggcctcatt gtcaaatttc cccagggaac ttctccagat ttacaatcct gtactaatat 95940

ttgatgtctc taaatgcaac ctttttttc ctttttgtgt ctgttttttt ttttttaaaa 96000

acaggaggac acatcctcac ctccacagaa gccacagtgt cactttgggg gcagaaataa 96060

tcctttcgtg gtcaacaggg tgagagtttt gaggaatccc agggaaacct ggggaatgtt 96120

ttccaattag actcagggca gagacctcca tgggaatctc tgattagaac aggctttgag 96180

ttctgatggg agccaaaaga gaggctcacc cagggtcagg gttcttaaaa cctgatggtt 96240

ttcacagcaa tccccccttca tcttgtgaaa ctgggcacat ctgactcaga ctgattcagt 96300

tgaccctctt tctgctaatc cattttcctt cccagtagac ttgattctca cagatccctt 96360

tcttcttctc tttcctgaaa acagaggatg tgttttctgt agtctaaatt ccaaggctca 96420

ggtctgcagg agctgggtag gctgaggggt cttcctcact cactattgcc tggaaaatcc 96480

tgctgtcttc tgtgcatgga ggcatttgga aaatgaagca ggcattagtc atgaagggaa 96540

taatactagt tttctccaat gggatgttga tgtagagctg atcttatgct tctcacactg 96600

tcacaaagtt tggactctca cctgtgactt tgaggagagc ttgtgatacc ttatcttgtt 96660

ttaatatgaa tagactctcc cttagctcag gaagctggaa cagactccat ttggctcctt 96720

catttgtaag acatcaaggg ctcctcaccc acccccttcc tcaaggactt aacttgttta 96780

agctgactcc cagcatctca aagagtgcga ttaactgata aggtactgtg gcaagctgtg 96840

tccgtagttc ccaggaattt ggccaggtga tggtacccta aagcccctgc atttctgtct 96900

ggcagataac acccagagcc cccacaccta tcatcttgtg atgaatttaa agcccctgca 96960

cctggaactg tttgcctgta accatttgtc ctttcaactt ttttgcctgt tttacttctg 97020

ttagaatgct acagttaggc tccccctccc ctctctaaac caaagtataa aagaaaatct 97080

agcaccttct tcggggctga gagaatttcc agcgttagcc atctctcagt tgccagctaa 97140

taaaggactc ctgaattcat ctcaaagtgc ggcgtttctc tctaactcgc tcggttacaa 97200

caagctgagg atggacactc cattgtgcag tgagctctgg gtgacagtaa tcgtagggtc 97260

tccccgggca gcctaaggtc aatactgctg gccgtcggga aagacaggct ggaattcctg 97320

ggaagacctg catctgccat ctaccacgga gtcctatggt cttctgttac actctctttg 97380

aatcagcacc acctagatta tctaaaacac tctttgtgac ttcatgactg ggaaaaaata 97440

atggcagtct ctactaacac ctgtgttaag ccatgggagc aacacctagg ctagtgtgtg 97500

attgagtagt tgagactgtg gtctagtcaa ggtgacacat aaaattgatt gttgccatta 97560

tgatatttta ttttatattt gacaatataa tcatgctcat attataaata tttctgttac 97620

attatttgtg tcagaggctt tggaaccaga acaacttcat cttgaataag gggtaggaaa 97680

aataagactg agacctgctg ggctacattc ccagtaagct aaggcgttct tagtcacagg 97740

atgagatagg aggtctgcac aagatccagg tcataaagac cttgctaata aagtttacag 97800

taaagaaact ggctgaagcc caccaaaacc aagatggtga caaaagtgac ctctgtttgt 97860

cctcattgct cattatatgc taagtattat gctttaacat tctaaaagac actccccaca 97920

gagccatgac agtttacaaa tgccatagca acatcaggaa gtttccctag aaactaaaga 97980

gtggaggaaa cctcagcttt gggaattgcc cggggaattc atgaataatc cttcttttgt 98040
ttaacgtata atcaagaaat aaccataaaa atggacaacc agcagcccat accacttctc 98100
tgcctatata gtagccattc tttattctct tactttccta ataaacttgc tttcctttta 98160
ttctgtagat ttgccccaat tgggatccct ttccagtaac atttgtgtta ttattggttt 98220
tctaagcaga aaactctgag aggaggtgtc agccgggctt cctgggttga gtagaggctc 98280
agaaagcagt gaaactcact catttcctgc atcaggactt actttggtcc tggatgaata 98340
atattgaaga tatatgctta aaatattcct aacatcacaa tttgtgcatg tgttttcttc 98400
cctaagaaag ctataaacag tgaaaatttt gctgtaagct tccctgtgtc ttctctccct 98460
ctctccattc cccctcccct gaaactaaaa ggaatgtttt aacattatgg gcttttaagt 98520
ctgtatttct gtgaccagca gaccttatct atgctcccaa ttcaaattcc ttgtaaacac 98580
aatttgtaaa atcctgcgag atcctgtctc cttggccacg ccactgcaag gtcataaagt 98640
agatcaaact taagttacaa ttctgatttt cctcaagatc tgagacatgt taattgtctt 98700
tgtttcttgc tcaggtaaca tctctttttg ctctttttta tctcttttg cacttaaatc 98760
taagtttaca ttagtcatgt atctagaatg tagaaatatg tcttaaagtt acttaacttt 98820
ttaaaaaatt tatggggttt ccagaagatg tgagaacctc ctttatttat aaaatagctg 98880
attgcacgtt gctcaataat ttcctcttta atttatctct ctcctgtcac attatactat 98940
gataagcaaa aagaaatgaa ggcataccat caacagttta cttagatatc tcctcagcta 99000
aatttctaag gtataattta ctaattctaa ttttatccaa tttaacataa ttaagataaa 99060
ttatataaca aggtacacat atgttccagt tctaacacca tgtttgtgac agaaataaaa 99120
cagagcttct ctctgtaatg tggtcatctg agccctgagg tgatgggtca cataggtatt 99180
tttatgatat ttaagggttt ggtcaagaac agtgataaca agtctgaaca agactggtca 99240
tacttgaaag gttacaggta aagttactgc tgttatttta tattaacgcc ttattagaat 99300
aaagctcaga ggaagaggcc acatcctagg tcacagtagg aggaggaatg gagctgtgct 99360
ctgctctcca cactactttt cacatcccag gcacaagccc aggttccatg acgcacggca 99420
tctagagggc agttctcagg ggatgatctc agggcacctg cttcctcggg cagggcgctt 99480
ccttctctca attgcagact tgctccttct gcaaggtctg aagtcagcac ttgtattccc 99540
atgattttta caggttctct tccctaatat ggcaaaaatc tttttattaa attttcaatt 99600
ttatttttctc tgaagcacac tgcattagca gaaacgaata tatcacattc cttatccgcc 99660
cacacagcca aagattcctg aagacagagc tgatgtgacg tactcatagg tggatctctg 99720
cccctcagag gtggccttgg tcttcaagtt tcagcaattt ctaggaagcc aaagacacct 99780
ccatctactc ctccctgctc gacagctcac ctgagaacag ctttctcatt ggaatgtctt 99840
gtgtttaaga aataaaagtt gctgtttgag gttagggagc ccaggtgcac ctaccagatc 99900

```
cagcccagga ttggagatac ttttcagaag acaacatcac ctgagacacg accagtccca    99960
ctgtttcact ttcacaattt cagcttcttc agaagaaaat taaaattgtt gagacttgtt   100020
cataagcgtt gtgccatgtc ctttctctgt tttcttgcct gttcattgat gtcatgccag   100080
gtgccacttc tatgtaatag gatcagaatt ctgcctctag taacacatca gaggtgaggt   100140
ttgattgtac ttttggttta tgctccaaaa cgtagattat aaaattcatc accctcattt   100200
ttatgtcaaa agtaatctgc ataatctgga tgtcaatact ttttggaatc tatgaaataa   100260
cagaaattgc aagaaatatt acccactcca aacctggaga gacaggcatg tgcagaatgg   100320
caattgacac ctgcttaact ggagcagaag ctgcagaagc cacaagctgt tgagggcact   100380
tacatggtaa gcactacaga cgtctgaaga cagatgtgga ctcagtaaat gtaacagttc   100440
cagagggtct tatacttcta agttttctgg aatttctttc cagaaacctc aagattctaa   100500
aatgtacatt ccaaagacat ttcctataga tcaaaattgc agatattaat tactgagaaa   100560
cataccacga gccttcttca aaagcttcta caggaaagga cttttccaga accttatcct   100620
atgtgaagga agacaaatct cccactgcag atttctctcc cattcttcca taattgtaga   100680
aatgagtaaa gttagccaat agaggtaaga tataagtaaa taatccaggg atgctgaaaa   100740
caaaaaaggg agtaatcgcc caaaatgagc ttttcccctg gagacgcctg gtcaagatca   100800
taggccagaa gaggaagctg actgtgtctc taggtttcca ctgtcagaac aggcagtgct   100860
tacctgcact gcacaatcca ttctaaccag gatgatggct ctggattaaa ggtgaaagtg   100920
tggcaatgca cagactctat ctgaggagaa cacaggaaaa ctaaaggaca acggcagagg   100980
gtgagacaag aacagtagag caatctgaag cctctgacat catgattttt aagaccaatg   101040
tcttaaacac tccttcattg acctcagctt ctttcatcat gaagcctttg cagtgactct   101100
atctgagaaa aagaaaataa cctcctgcat gcacttctca agtctctgct tgtatcctgt   101160
ttgctttagg tctctagggg aaaaagtcag atacctggac ctagtgtcag tgtaggaggc   101220
acatcctaaa agctacaaac taggaagaag ggaagatggg tgttattgga atagtggata   101280
tggagtgggc tttcttctga aagtatatgc acctgctggt attctcagat gcaacattca   101340
actgcaagag cccattgaag aaacaaggca ctcccaaatc tcctgtaaga ttctgtattc   101400
atttcagata agcccacatg tccccgcatt aacttttttct tcagacaagc acatacatct   101460
gaaactgaac agctatgtgg caaaataagc tcaggataga agtaattgtg gactccagct   101520
ctgacaattt gtagatctgc atttttaaaa ttctaactga agactttgct ttattgtaga   101580
ggacagtggt ttacagctcg aattgcacag cctacaggca gatgtccatt tcctctgggc   101640
aaggtttatt tttatttgtt tactgtactt atttgttgac aaacattgat actataaaga   101700
taccctaaca gcgtccacat gaaagaaaaa gaaagagcaa tggacacatc aaccctgaac   101760
```

atccagtccc aggaatcctt tgaccctgcc ctccttgcaa cccagagata tagattggat 101820

gagccctgct gagcagaaca cacatgtccc caggagaaag acatggaaat gaggcccctc 101880

cctgctaatg aaaagcagct cttcccctct tctcctgcag gtcctggtga ggagccaccc 101940

aatatctgtg cccttcctca gtgtccacac catcgggtct atgatgatct gggcttcact 102000

tgtcatcact ctcaatattg aggttccccg ttaaacagac tgagtgaact gtggctgctc 102060

cacgtggggg ctgttctcag tctgttgctt ctgtgcttgc agaggtcccc tgtgaagtta 102120

attactggag tctctcagag aaatactaca gaccaagaat tctcagactt ttctggaaac 102180

cctgtggatt cactttcact gaaaacagca taagcttggt ccagcaggct tcatgacagg 102240

ggtgggtgta ggtgataaca tcagtaattc aagtggaagt tctcagtggg actctccttg 102300

agtacaaaga agattaacag tcctcagaga cacgcttttc agatgattct ctcttaagat 102360

gattaacctg agagctcagg aaaattccgt ttattactgt gagggacacg gtgaggggac 102420

atctgtgtga gctcagacac aaacctgcct gcagggagac acaaacctcc ctgcatggta 102480

gatgcttctc agaaccacca gggggtgcac aggaaaccag aaggtgctca ggacaccagg 102540

gggtgctcag aaccaccatg actcactcaa gacgccaggg gcgctcagaa ccaccgtggg 102600

gcactcagga caccagggga cattcagagc caccaggggt ggctcaggaa acctaggggg 102660

gtgctcagga caccaggggg actcaggaaa ctagggggta ctcagaacca ccaggtggtg 102720

ctcaggacac cagggagctc tcagaaccat ctgggggcac tgaggaaacc aggggactca 102780

aacactaggg tgtgctctga agcaccagcg gaccctcagg actgcagggg gcgctcagga 102840

cactagggaa cactcagaac caccaggaag cgctcagaac caccaggggg ccctcaggac 102900

atcagagcgt gctgaggacc tccgggggcg ctcaggacct tcagagagtg atcagaacac 102960

cagagggcgc tcagaacacc aggaggtgct caggacagca aggggctctc aggacactag 103020

ggtgtgctca gtaaaccagg ggtccctcac aaccaccagg gggcactcag gacaccaggg 103080

gatgctcagg acaccagggg ccactgagga caccaccgct cccttagcag gcagctccac 103140

atcaggcccc tgggttgggg caggaagggt gttttccttt tggatcttgc cactaaactc 103200

ttgggagttt ttctccttcc tttgtggttt caagaaacat tggtagattc ttctcaggta 103260

taaagctctg ctttcttgta ttatgtaatg tttttggttt cggatgttac cagaattaca 103320

ctgcactgtg agaggattca ttcctcgtgt gtgcaatagt gaatgaaagc tgcaatgtta 103380

ggggtggctt tgaaagctac gttaggggtg gctaagggca gttagcagga aatgatcatc 103440

actatagaag gctactcatt tctttgcaca tttccataaa taattgtagt ttatgcccta 103500

aaaactgcat gctttcttgg ccctttttct taaatgcctc caatccaaga ccagtcatct 103560

aattaagctg tatgtcaaag accaccaatc aagttaagtc tgtttaatga aacactttgt 103620

aaacaaaaaa gtacatctgt gtttgtatag tcagctttaa attttacatt gctttacaaa 103680

tattaatttt gtaaatttag tctcataatt atcgtcagta tttaaaatct taaagtcatg 103740

ctatgttaaa ttaagtaatc ttagctttct cactatgaat tagagttact aagaattaga 103800

atagtaagag catgtaataa gcttttggtg aagtttataa agaaagatga agatacgttt 103860

tttgctttaa aatattttgt tttccagttt acaggacctt tctactggtt ttaagataac 103920

aatcactgtt tacatctaac ccttttttta aacacctgct gtttaagatt ataaaattat 103980

aaaattaaaa acctagttaa aaccagattg atctttgtaa tttaacaaga tgttcagtat 104040

tgttgtttta ataaaaaaaa ataggtaaat acttagctac tagaaaaata atcatctact 104100

taatcataag gttttactta ggtaaacacc taaatttcat gggttataaa catggttaat 104160

aggtgaaaaa ctttaatgga caagtattac agttttcata aatattctag gtaagctatt 104220

taaaaaataa attaggtaaa tgaaataaaa taaaccattt aaataaactt gttctacaat 104280

ttaaaaatct aaagtttaat taaataatat atattatata aatgtttatg cattactaat 104340

tgtttaaaat atatatacta taaggaaaac tttttaaaaa tacatattat aagaaaatat 104400

tttttgaaaa catttgtttt tagaaaaata atttatttaa ttcaaaggtt aattataaaa 104460

tgtcgtaaac atacccagtt agtaagagag gtttaaagaa agttctagac atagagaagt 104520

acttttggta agaaaggtta aaataaaaaa aaattatatg agaaggaatt ttgtaggata 104580

acttttttata tataaaagtg actatttatg aaagaataat gtttagaata aaacaagatg 104640

ttcaagtatg ccataaatgg ttcgtgtaag tcaaaataag gtttatagaa agctaactta 104700

ttaaaaaaac ttcatgttat cgagttgact ataattgaaa gggaagaatt tattatagtc 104760

tttatagga tctggctttc atatgaaaat atactaacac actgaagatt ggttagaatg 104820

acaaaattgt cttaaagtat tgatttattc aataaaatta taaggtatta taatttttta 104880

acccaaaatt ttaacttttg ttgcatcttg ccatttttat ttttttccat ttgagaaggc 104940

ttgagaggat ctcaactttt tcatcagctc ctttaacatt gtttcttact tacagcagtt 105000

agcctctgag ttaacttcta actgttgtta gtttctgact gctattattt cctgatgtta 105060

aaatcctcta tcttaaagtt ctaaataaaa tgttttcttt caatataata ttcagtgtcc 105120

ttggcttttc tttaactgtc taaatttttc tatgaaacca aaatcttcac ttgtaaagac 105180

acattcttcc taggtctgat taattcaaat actttttttca ttagagttga cttgcaggtt 105240

atgtacatgg agttccccat agggaaaaac agtcacagtg cagaaggctt tatttttgct 105300

atttggtaac tgggcatgag acaaatttta aatttcattg aaataattcc tatgtaagtg 105360

ttattaagtt tttcaactac ttagtaatac tgagagttta agacaataga aattaatgtt 105420

atgacattca tgtaactatc tgtataactt ttaaagtcct tgtgctgcta ctttactgag 105480

ctttgaatcc taggtctaaa aaggacacac aacactttgg gaggctaagg tgggcaaatc 105540

acctgaggtc agaagttaga gaccagcctg gccaccatga caaaaccccg tctttactaa 105600

aaaatacaaa aattagctgg gcatggtggc aggtgcctgt aatcccagct acttgggagc 105660

ctgaggcaga gagaattgct tgaactcagg gaggtggacg ttgcagtgag cagatattgc 105720

actactgcac tccagcctgg gtgacagagt gagactccat ctcagaaaaa ataaataaat 105780

aaaataaaaa ataaaaagga caccaagtcc agctaaatct taaacaccga cagcaattaa 105840

agccccatct acagacctgg aagaaaatga caagaaaaat tgatcacact ctcaagacac 105900

aagcccagaa attgaaacta cttaaccacc ccagccccag ggactattac agaagaagtg 105960

gctttgtaag attgtaaaag ctaattttga gagatgaaat cagttcagag tttctttata 106020

aattaaacat taatgcaagg ctagcatctg ggcccctgtg ccagattgac cagggtttct 106080

tgaagaatta atccacattt aaatttaaaa aacagataaa actgtataaa agatctatgc 106140

aaattatttt tatggtaaaa gtaattataa tttaatagat ttatttttca gaattgatag 106200

ttttaacttt tctcatgctg ttcttctaag gggttatatt ttagaaaatc aattctactc 106260

tttcaaaaat attttttttc tttttttag aaatcactga gttttcatgt ggctaaataa 106320

ataacttatt ttacaataat ctgtaatcct attttgtaat atcaagtgtt gtaaactttt 106380

gatatttgac aaagttcaca aaataaaatt ctaaattcag tcatttgaac accctgaaaa 106440

gaaacacatt tagcttattt ggtacagtta aattatacag gaagtaatgt caaatttgca 106500

atggttatta actttggact atatttatat aaatgtggac tatataattt gaatatactt 106560

atgtaaagag tatatgttcc aaaattctat tagattcaag tgatttttat atgtcttagt 106620

atcagtagta cttatgatta taatttaaaa tttttgttta tcacagaaat aaccaaattt 106680

tctcctcaat tctgtcttta accaggggta ttctaaaagg tcggtcattc acaattgttg 106740

ttttactttg attctttatc aggtggctta taataatcta tagaactttg agtagtactc 106800

ttaaatatac aatatacaat tttgacaatt ttataaattg tgccattggt atagagagaa 106860

aaacttccat gagtctcatg agacctgaag catttatgat gattgttaat ctaatatcaa 106920

gcaggacagg atgtaattgc atgaactgaa tgaaaaggag actgaaataa tttttataac 106980

ttattcttta aagcatttgc tatttactta tgttttattg ttcagaatca agaaaacttt 107040

gtcttttaag ctattcacag tttttaacaa ttttaactat actctattga gaaaaattga 107100

aaatataatt tcttcttctc tacataattt ctccaaaatt tggaaactgt aggtattctt 107160

atatcaaaat agttatttgc ataggttcga taaaaatctg ctttcttcca taacagagca 107220

caattagaga caatggtcac tttaccaagg ctttaacttg aatgacatat tttctgattt 107280

actttataaa atgaagagct gtacagctga tataagcccc tttggaaaac tggcatttta 107340

ccttttttttt ttttttttaac agggccctga gctgtagtaa gtaaataatt ttgctttctg 107400

acaggcccag gaaacccaag ttttcttgga tacttgaaaa aataaaaagt aaaccaatcc 107460

atatagctat ctgatggcac agataaaata ttggctgggc ttgaggcttt taaagatctt 107520

acccttagat tccttataaa aaatagcaaa agcaatgtat gaataaaaca gcctatgtac 107580

aacaaacaac aacaaaaaca aaaacaataa aaagagagct aatatgttaa gtgattattt 107640

ttgctgcatc ttatacaaaa aaatcaggcc aagtataata agcctaaaat ttattttaca 107700

aataaattag tcctattatg attttgtctc caataaaatt ggggaattat agggagaaat 107760

attctttcaa aataaactat agtgcatctg ttattaggtt ctaaccttgt ccacttgttt 107820

ttcaatttac aatattttcc acaatttgga ctcaatttta aaatatttct ttccacaagt 107880

ctccaaaata acattttcag tgattttctt tttaaatatt tttttcctat ttgaaatctc 107940

cagaaggtaa actgtgcttt cttacagcta gtcaacttaa actctaaaat aaaataaaat 108000

caatgatatg gtttgtctct gtgttcccac caaaatctca gtttgtatag taataatttc 108060

cacatgtcaa gggtggaagg aggtgaagat aattgaatca cgggacgtgt tttctccatg 108120

cttttatcct attagtgagt gagttctcac aagacctgat ggttatataa agggcctccc 108180

tcttcacatg acacttctct ctcctgcagc catgtgaaga ggtacgtgtt tgctgccctt 108240

tccatcatga ctgtaagttt cttggggcct ccccagccat gtagatctgt gagacaatta 108300

aacctttttt taaataaatt atccagcatc aggtatgtcc ttatagcagc atgaaaattg 108360

tctaatacca gcaacttaat tatatacaaa aattcctttt ataccctcct actgtgaagg 108420

gaaaataaat cttgagaccc caaaattact aagctaaaga gaagagtcaa tgtggtgtta 108480

caggagatag aaagaaatta tttaggtaga tagttgggat gagagagtct ctggcaaaat 108540

aacttttctt ctaacaaaaa tcagctcaga aataacttct tctctaatta cacacagttc 108600

aaagaaatca cttctaacaa aaagcagact aaataatcag gctgtgaaat atagataagc 108660

aactctgcca cagagagggt gtttctgggt gtaatcacca aacctcacat atataggatg 108720

ggtcccagta aaaacagtga gccttaataa gcacattcct tttcttttct gggagtacac 108780

taagatagaa aagctggaag cttgcacggg gtttgcgacg ccggcacctg tgaggaagta 108840

cctgggacca ggcaagaaaa cccttctggc ctttcttagc acatgcacgg tggaagaaga 108900

taagcagtgt ggaggagatc aagcaaagtg cccgcctgcc caatgaaagc atgaggtggg 108960

gttgccagag actttgctct atgcagatgg cacacattgt cctaactgtt tttgcaccct 109020

atgctgataa gacaccgtct ccccacgagc acatttataa aaatccttac attttactgc 109080

agcacgataa cccatttggg acccctctct gtgacagaca gctttttttt tattttacct 109140

attaaacttg tgctctaacc tcacccttag catgtctgcg accttgatat tcacggccgt 109200

gagacaaaga agttcgggtg gtattccaga caacgaggct gccatactgg aaagtgcttt 109260

gggcaaatct gcctcccctt ctgtttaaag tgattcctct gaggctaacc tgagaccaat 109320

acacagctga ttgcttcctc ttcactatca tttatgtaaa aacgaagatc cactgagtca 109380

gactaaattg tgcattcagt ggtaggctaa taaagtactc aaaagaacgc aacctattgt 109440

ctcttatcta cttctaaact gcagtccgtg cttttgattc gtcctgcctt acaggaaaaa 109500

tccaaagtac attttacata tattgattga tgtctcatgt ctctctaaaa tgtataaaag 109560

caagctgtac ttcaatcgcc ttgggcacat gtctcaggac ttcctgagga tggtcatggg 109620

tgagttccta actttggcaa gataaacgta ttagtctgtt ctcctgctgc taataaaaca 109680

taacaaagac cgggtaattg ataaaggaaa gaggtttaat tgactcacag tttcacatgg 109740

ctggggacac ttcacaatct tgtcagaaaa gcaagcgaca tcttacacgg tggcagacta 109800

gagagagctt gctcagggca actcctcttt acagaaccat cagatctaat gagaagtatt 109860

tactatcatg agaacagcat gggaaagacc tgcccctgtg attcaattat ctctcattgg 109920

gtccttccca tgacacatgg gaactgcagg actagaattc aaggttagat ttggatggcg 109980

acacagacaa accacattag taaacttcct aaattgactg agacctgtct cagatatttg 110040

tcgtttacct aattcatgtt cagccttcag agttccaagg cctatatcag ttttccagga 110100

ttgtttcccc tttttgttgt ttgttatttc ctcctttatt tatatgtttt acttctcttt 110160

tttctcccac tattttctta ttaatggatg tgaaacttca caacatttga aatataggta 110220

acaatgaact ataataacaa cttgggacct atttatctag aaataatccg tcctacccat 110280

gaaagaaaaa aacaaaaaca aaaacagaag cccagaaact tattttgtgg taaaatgctt 110340

cctctgaaat attttggaaa ggaaaaagtt gggaagatat gaaatgaaaa taaaaacttc 110400

tgatgtcaat tcattatgtc atgaggggga aaaaaactaa acgatgatcc acgcaagaaa 110460

ctgattttcc tttcattcct gagaaaatag ccacagacag ataaaatgtt agatatcttc 110520

acagatagct acaatttgtt catctttgaa atacttagtg caggagaacc acttgatatt 110580

ctatttccct atgtgcttct ttttcattac tacatgtaag ttttcatgca attcctcctt 110640

cccctctagc cagcttttcc cctttatata ttgaaagccc taaaaaatgt cttttgggaa 110700

tggcactaac cacgcattgt ttctgtgatt acttttcttc caagcatgcc ataactttga 110760

aaaattaatt ttaatttgat tgagagctct ctcagaaacc tttggttaca ctaggcaaaa 110820

tccaaaatca ggagccaatt attgtaaaaa tcagccatag tacactgtgc gtctgtgtgt 110880

gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtacatgtgt gttttaattt ttgtgagctt 110940

tgagccatgt agttctctct gtggagatac tatttggcgt gactttgaat agagaattct 111000

aaaagaaata agaagctcct atgagttctc tgaaagtttc tggactcacc atggatcttg 111060

actgtgtcat tgcatcagac agtcccaggg aacagactct ctggtggttt catagaatct 111120

atgcttgggc tctccctgca gtttactggg tatagtaatg acaaatcact gtttcaagag 111180

acaatttcaa aagcattaga tgctgctgag agaggattgt gaaccagggg actgcccctt 111240

tcttcttgga gagcgacatt gggagaatat gctctgtgag cccaaacagc atcctcccct 111300

gcagggtgag ggcagagttg cagggcaggc ccagaaccca ctccacacag atgtcagccc 111360

tggagctgct gcagaggagt ctgaggagaa aatttttcca gcacctgaat tacacttatt 111420

tcaaaacaaa aatgcaatta aaaagttaaa acaagtaatt aatgtccagg cacagtggct 111480

tacacctata atcccagaaa tttgagaagc tgaggtggga agatttattg aacccaggag 111540

tttgagatca gtctgtgaaa aatagtgagg cttcatcttt atttttgaaa ataaaaataa 111600

aataaaacat aaaaaattta gcaaaaacta cgatgcgtct ttacataccc catcatactt 111660

gaagcattta cctaacccaa tgaggtgatg aggacccaat ttgaaaggag aaaattttag 111720

acttttcata tatcttaata gttggaagat gtagaagaaa tatatttata tcaattaaat 111780

gtgtgcaaat attgacagac acaccatacc aggagttcaa cttgcaaagg gtaaaaccaa 111840

aaaagtttga gattgttaat gtgccatttg aaggtgagat cgttttgagg accatgtcct 111900

gtgagagttt gtttctctat tagaggagtt ctgtactcat aaagttctgg acatgccagg 111960

agacaagtat cagtaaacaa atatcagaac ttgaacttca gcttcccact cttgcattct 112020

ccatgtgtca tctctctact atttctcatt ctagatcagg tctttagcta tgaaatattc 112080

cacctaatta acatgtaaat agattgaagt ccacagagtt aaatatgtat attttctcct 112140

gtttttccca attgttccct cccacagctc caatattctc cactgttacc atcaccttct 112200

agatctgctg ccatgccctg cagattaagg atttgattcc atgacagaga ggaggtgcat 112260

ttcaatggaa ctttggtgag aacctcggtt tttatcccat ttcctctggg gctccaccag 112320

tgcatctgga ataatgggtt cagtggctgg cccctgcagg gtgattcctt agttctgtag 112380

tgaagatgag ggaggtgggt ctgaatgcat ttcagaagta tgggctctcc tctctcagac 112440

agacactttg ggaaaataag atttttctga ctgcacccat tctagaacaa aggaattcaa 112500

ttggataaga atgctgataa aaaaaacctc aaaccaaatt aaatttaaag gagtttaatt 112560

gagcaatgga tgattcatga attgggcagc ccccggaatc acagcagatt gaaagagact 112620

tcagtgcagc catgtggttg aagaagattt atacattttt ttaaattatg tacagaaatc 112680

agaagtgagg tacagaaaca gctggattgg ttacaggctg atgtttgtct tatttaaaca 112740

cagtttgcac actcaagagt gtatgagtgg ttgaggtatg gctgctgaaa ttggccaacg 112800

ctcagctgtt ggtgaggtgc tcaggtacat actcctgagt taggttttca atctcgtcca 112860

cctattcagg taggttaccg tttgtccaca aggactcaaa catagaagta cggagtcctc 112920

ctcaggccat atttaattca ctttatcagt gcccttcagc atatggttcc tgagaatttc 112980

acacggcaac atgtttacca ccctagaatt taagcaatcc aatacatgta ataggctgta 113040

tttcacatgg caacttctgc ctcagtttag ctaacactat ggctttgttt ctctctacaa 113100

gaactcattt ctcccaagat ttccattttc ctgaaaggaa aataaatctt tgggaccccc 113160

atatcactaa gccaaaggga aaagccaagc tgaaaactgt ttggggcaaa cccaccttcc 113220

attctttccc taaaatgata gctgttaagg tgtttacaag ctacatatct ccttcaaaat 113280

ttgaccgcac agaaaatcct tgtagaccaa ggacattgta gaccaagcag agagtcactt 113340

ctctgctcac gtaagtcaaa tgcatatctg attgctccct ttgctctatt gtttcactaa 113400

gccagactaa ggcctatgtg actattcctg taaactgtgc attcagttaa aggctaatcg 113460

gaaactcaaa taatgcaacc atttctctca tacctaccta tgatctggta gctctccccc 113520

caacttcaat ttgtcctgcc tttttgaact aaataaatat accttacata tattaattaa 113580

tgtctcatgt ctccctaaat tgtataaaac caagctgtgt cccaccacac tgggcacgta 113640

tcatcaggac tccctgaggc tgtgtcacag gcatgtcctt agtcctggaa aaatgaactt 113700

cctaaatcta ttgagattag tctcagatac tctttggttt ataagtatgt tttctatctc 113760

ataacttcaa ttatctgaaa tactaaagga aatctgccaa ataacacatt atcttgttta 113820

tctgttattg ttgttgcaaa aataaatata tttatataat ttatgtataa ttgatcatct 113880

ttgtacatta ccaaactgag tagcagattt gttagtaaga cccaatgtaa taaaaaattc 113940

aaatatcaat taacaactta atagaaaaac aaattacgct acatttgttt gccgaaatgc 114000

taccaatttt tataaaaaaa taaacacata taacataaat ggtttaattc tcagtatttc 114060

tattgagaaa aataagccaa atacataagc gaatatacta tattatttca ttcttataaa 114120

ttctaccaaa taaatactag tctaaagaaa tatgaaaaca tcagtagttt ataaagaaat 114180

ggtagaaaaa gggaagggga aaaaacaaat aatataaaag atcaagagga atgctgaggg 114240

gagttgactt gttacctcat tgaaaataga gattattttt tcaaagttta ctattgcaca 114300

tgttaaatat gtgaatttta tcatctgtca gttaaaactc ataaaattta ttacaagtaa 114360

acagccgaca ttttatacaa aaaagggatg ataggaagaa acaaataaat acattaaatg 114420

tcagatacgc caaaaactta tctgcctgac ccctagttgt ctccgtaatt tttggatgaa 114480

aaccagccca cccctgaccc tgctgctctg ggagaggagc cccagccttg ggattcccaa 114540

gtgtttgcat tcagtgatca ggactgaaca cacaggactc accagggagt ttgtgctaag 114600

ctgggttttc cttgttgcta tattaaaatg tgattcatgg agaactagag agattgagtg 114660

tgagttacat gagtgagaga aacagtggat atgtttggca atttctgact tttgtgtctc 114720

tgtgtttgca ggtgtccagt gtgaggatca gctggtggag tctgggggag gcttggtaca 114780

gcctgggggg tccctgagac cctcctgtgc agcctctgga ttcgccttca gtagctatgt 114840

tctgcactgg gttcgccggg ctccagggaa gggtccggag tgggtatcag ctattggtac 114900

tggtggtgat acatactatg cagactccgt gatgggccga ttcaccatct ccagagacaa 114960

cgccaagaag tccttgtatc ttcaaatgaa cagcctgata gctgaggaca tggctgtgta 115020

ttattgtgca agagacacag tgaggggaag tcaatgtgag cccagataca aacttccctg 115080

caggaacgct ggaggaaatc agctgcaggg ggcgctcagg agccactgat cagagtcagc 115140

ccaagaggca ggtgcacaca gaggctgatt tcctgtcagg gtgtgggact tcgtcttttt 115200

accatttctc tagggaacct ctctaagttc agaattctgt gcttaccaat gtcatctcta 115260

catgtttttt aatgattatt ttgagaacct attcttacat gcacaaaatg cagatggatg 115320

cttacagaga tgaaaagtcc tcaaccatgg tcaccaggat cagccttgag gaaactcagg 115380

ggtgcctggt gaatcttctc cagtcagact caggacagaa acctctgtga gattccctga 115440

ctagatcagt cttcaggaat tttgatacca gccaatagag aggctgggcc agggtcagtg 115500

tcatgtagaa cctcacaggt ttcacgtctg acccttctcc ttctcctgac actaaagtat 115560

gcaaatcagt atcagcactg atctgggtcc ccttttgctc ttaaaccatt ctatttcttt 115620

ttatttgttg ttgttcttgc ttttcctcgt acttctcttg ctccctgtaa aatggggagg 115680

tgtttcttgc tgcaaaagcc ccaagcctca agcccattcc ctgcagctca ggcggggctc 115740

aggctgtggc tcctgcagcc acatgggagt ggctgttggg gctttctctt ctcccattgc 115800

tcagcaccct ccagtgtgtt gtgtggagac tatctgggaa cgaatgtgga caacaggagt 115860

gaaggggatg agcttgcgtg gacagaatgg gatgtggatg tgaaatttat cctgtgctgt 115920

acaaacaacc acagattcaa cttcctcacc agtagtatta gaaagagggt gtgaaagttg 115980

tcagaataaa aatggaaaca cttgtgttaa caccctgaca aatggaacta ggaatgacca 116040

tgaagaagtt tctcatgcat atactccaga aaacaagaac taccgtaaat ggattctgct 116100

taaccacagc cttggataga agaaaccaca accttacaaa aatcacttct acaaggatat 116160

cttcccagca actccctgtt taaccctaca gtgatgccac ccttagtcct acaaaaatca 116220

cttctacaag aatatcttcc cagcaactcc ctgtttaacc ctacagtgat gccacccttа 116280

gtcctgattc taggagcaca ggataatcct ctcaaaacga cttatgtaac ccacctcatt 116340

ttcactgtgt aaacctatgg attcacatcc tggagtcact gctgcatttg ttcttaatgg 116400

tcattagccc ctttcacaat atttgaggct gtttttctct gatgtctctt ctaaaataaa 116460

gaatttccaa gtggacagca gtaaagaagc tatttaggaa gatgtaatgg gaaggcatct 116520

ttaacattct gttgaatgtt tccacatggc acttcaatcc cctaaaatac tttgctgtat 116580

cagcatgtga tgaatcggag tataatattg aaggtaaaat gggaaataca tgggcttttg 116640

atgaatcaag tcataggatg agaatgtctg tgtccttgag gaaggagacc atgggttgta 116700

agttctagtg gaggtacctt tggcaaaggg agttcatgag tttctgaacc ttatgctact 116760

tttaatttaa ggacgcaatt tatgatgtat gtttacttaa atctttccag agacatttgt 116820

cagtaaggac agggtagcat ttgtgtaata gtgatgactt agagagttat tttgtaattg 116880

ctcctgtaag gtatgcacat tgctcacttg atacagaagt tcaaatgtca caggtggaaa 116940

aacaggaata aaggtgggca gatcacaagg taaggagatg gagaccatcc tggctaacac 117000

ggtgaaaccc catcgctact aaaaaaataca aaaaattagc caggcatggt ggcgggcacc 117060

tgtagtccca gctactcagg aggctgaggc gggagaatag cgtgaacccg ggaggcagag 117120

cttgcagtga gccgagatcg caccactgaa cttcagcctg ggcaacagag ggagactcca 117180

tctcaaaaaa aaaaaaaaaa agaaaacagg aataaagcaa attttatgaa ctgtcatgac 117240

tgtagttttt ggcaaggaca ttatcatgtc aacctgtaaa taaacagaca acaataaaac 117300

atatcaaatc catggggagt ctgacctatg tccctctgtc ttataagcac aaggctttgc 117360

cacatccaaa atattattca ggctccaggg tataaaatgc ttttggactg tggaaggtaa 117420

cagctctccc ctcaggcagg ggtaaggtat ctggggaatg cagagttgtg ttcataagga 117480

agatgtcatt atcgtgtctt ctcctgtgcc tggtagcagg tcctgaaggt gaacgtctca 117540

gatgtcagac atgggtctat cgggttagga taggtacatg tgactgacag ggactgattc 117600

tccatgtaat cacatgccct gtcccaggag cagctgcagg agtcagccct ggacctgaat 117660

agcacacact taccctctgc ctcacctaca ctgttactgg ccactccgtc acaaccagtc 117720

cttactagtg gacctggatc tgccggctct cagggagggg ctgcaatgga taaaatccat 117780

tgctagtggt ggtgggagtc catttgtctt gtggaaaatg gcagcatttc cttattttat 117840

aaggcataat aatgctatgt tgtgtacaca taccacattg tctttatcca tttgcccatt 117900

gacagacact tagtttccat atcttggctg ttgtgaatac agctgcaata atcacaggag 117960

cgcaggtatc ttcacaaggc ggtaatttca tctctttggg tatatttcca taagctgcat 118020

cactggtcat atggtatttc tgttttaatt catttaggag ccaccacact gttttgccta 118080

atggtaatga tgagaataca gaatgtcata gccgctacga agaacagttt tagatttgag 118140

gtataatcca aaagcaaata atgtttgatc agggttctca tatgaggctc taataaataa 118200

gtccagaaag ttttcccatc ttgggcaagg atgagtttgc ccctaattgt ctttgaggaa 118260

gaagattggc agaacgtgag atggagtctg ttggcaggat tcaggattca gtaataacta 118320

gtaatggcac agaaaaatag agagatagag acatacagag aaagagagag agaatatgaa 118380

tctcataaga ggaaaatttg ctaaatatca gcattgggtt ttcagtcata gacacatttg 118440

tatgagccag gaaccatgga gtcaagtgag gagtggagaa tatgttcagt ccaaaaatca 118500

gcatattctc agaggcaccc attgccccat cacacaggtg gagaattttg gaaaccagtg 118560

aagtgcgagt tcacattagg tgattaagct accatgtttc gataaacttt cattaacatg 118620

caaagtactt ccatagataa ctgatgcaca aatatacgag atgccttttt gcgtttatgg 118680

atgtctagag aaaaataagt gagaaaattt ttccaggttg cagagatctg tttaagttgc 118740

agattccata ggagagtgtc tttgaatgaa tactgttcta ttaattaaat aggtcaaaat 118800

tccctctgtt ggagcagcct tccaattata tagatttctt tatagcttct tgagttgtga 118860

aacataaacc caaggattga cttactggaa tatgactgct gtgttgatta aatttctgat 118920

aaggtttctt ccaatgattt gagaatagct ttcctgtttt tttactcaag gaaatgaatt 118980

ttcacaaggt ctcaggacat cacgtttcag gtgctttagt taaagagact cttcttgggg 119040

gcagtcagct ttcttccaac catgagctca tttcttcagc aaaccattcg ctttgtgcct 119100

ctattaagaa ttatgaagct tttgtacttc aatgcactga aaatcatgcc ccttgaatta 119160

aatgttgatt ggcactgaca tgaattggcc actcttgtat atgtgtccta tgttatgggc 119220

tcaacataac agtggactga gaatcgtcca ttagctgcct ctgattgtgg cactgaccag 119280

attgagaatc ctcagagtca tccatgaaaa agagagtcct taggttcatg aggttcttgg 119340

agacattcag gtaagtggag gagagaaaca ggattggggg ctgccagcca tttcaacaag 119400

actgggaaca attatcatct atgtttaaag gtctacatca ttccaaacac cctccaggtt 119460

tctctgagtt cattgtgatg attacattca gctgcttctc cagtgagttt aaatgagcat 119520

gtggcaattc agatgagcct ggctgtgggg tttattatat gtaaatctga actacataaa 119580

caaagagggc atgtctgacc gtatgagggt gcaaaatcct ggagacccca caccccacac 119640

tcttgtgctt tcttttctcc agcaacctcc aggttttttt gtatgagaat tgtaatagat 119700

tatctcatgg ctaagtcatc aagagacgta aactctgaga aatacaagca gaaaattctc 119760

cagatagaag atccagggga agaacatttc tagcacctta tctatgtagg ggaaggcagt 119820

ccatctccat tacagacccc tcacagcagc cttcctttat aaggaaaatg ggtcaaatta 119880

gccaataggg taagaatcct ataatgttcc agccagaaaa gggaaagcat caatttgact 119940

tctggagact ctgtatatag gtcacattcc atagaaagaa gagcactaaa ttattaagat 120000

tcaattgtaa ctacatatga tacttccggg atgcacaaat taaagatgaa agtgtgacaa 120060

tgcacaggct ctgtcagaga aggagaacgt agggaaactg aaagagaatg gcagagagta 120120

agacaaggac agaagagcaa tatgaagcct ctgacatcaa ctctgtaagg acaaggtctt 120180

ggcaactccc gcattgacca cagattctgt taccatgggc catttgcagg gttcctagct 120240

aaggaaaaag aaaaaaaaaa ctgcatgcac ttcccaagtc tccacttgta tcctgttttt 120300

cttagatctc taggacaaaa aaaatggcat aaacctagac ctagtgtcag tgtaggaggt 120360

actttcttta taggcaagac actaggaaga agggaaaatg tgtgttattg gactaggaga 120420

tacagagatg gctttaatct gaatagatct acacccgcag gtattctcga atgcaacatt 120480

caactacaag agcctaatga agaaacacga ccctccccaa acccctgcaa gctcttgtat 120540

tcactgtgtc tccactgatt tagtgcacct ggagcttcag agcactggct ccctcctgtg 120600

tcctagaatc ttttctttgg gtctttctgc agaattcaat aggattagtt aggctaatca 120660

attgtttcaa gagatggtgt tggcagcata tattgtcgct ggaagagtat tctaagccag 120720

gacacaggca ctttatgccg gactaaagac tctggagaaa atgttttgtg agccctgaca 120780

gaaacctcct tgaaaggtaa gggctgggca ggaggggggca ctgaggagcc acgcagcaca 120840

cggtccagcc ctagaacagg aggctgggga ggaggtttcc tctcagggcc tcggttttcc 120900

ttcgtcagaa aaaaaaaaat ctaaaataac cgttcaacaa gttgctgata tgccttcaaa 120960

tatcctgcta caatggaaca attcatataa cttcaggcaa tgagaactat tttttaaatt 121020

gggcttctag gattataagt atcttaatag tgaaaatgtg aagaataggt atgattttac 121080

tatttcaatg gatacagaat tgtgggagtc actatattcc tatgaacaaa aaattcagat 121140

ttcagtgtta agtaatgttg cctacattgt gtgagtgacg gggcagtggt ggatccgaga 121200

gtgtggtggg tgcacggaca taatgattca gaaagcaata tggaaagatg agtatctatg 121260

gatacgaact gaaagtatgt aaatacttca caaaatacta ataaacggag ttgaatataa 121320

aacccataat tatccaaaac acaaatttct tggaagttat tttgggaaca tgatttctta 121380

aagaactcca aactcttgtt tcaacttctg actcctcgtt tctgtgatat aagaaaacca 121440

tttccaatta tgcatctcag ggcaattctg taaacccaga gcgtttctgc tgaagatcct 121500

ggggaatcaa gacaccgggc aggtgatgga gacactgtct caggtgcgcc caacgaatct 121560

cagaggaacc tgctggagag tcacgtggaa catctacagt cagtttctca gagtcaacag 121620

tgagctgtgt tggtgcctga ggggaccatg atggggccaa ggcacgtgcc cagtgtcgtg 121680

gacagtgatg gtccagaaat gatctagatg gtcttgacgc taatgaaata tgggttcaga 121740

gtgaggagca taatctgtgg ggacttgttc ttcagtgaaa ggatcctgtc cgcaaacaga 121800

aatggagcag gacatgcatt tcttcaagca ggattagggc ttggaccatc agcatcccac 121860

tcctgtgtgg cagatgggac atctatcttc tttctcaacc tcgatcaggc tttgaggtat 121920

gaaataatct gtctcatgaa tatgcaaata accttagatc tactgaggta aatatggata 121980

catctgggcc ctgaaagcat catccaacaa ccacatccct tctctacaga agcctctgag 122040

aggaaagttc ttcaccatgg actggacctg gagggtcttc tgcttgctgg ctgtagctcc 122100

aggtaaaggg ccaactggtt ccagggctga ggaagggatt ttttccagtt tagaggactg 122160

tcattctcta ctgtgtcctc tccgcaggtg ctcactccca ggtgcagctg gtgcagtctg 122220

gggctgaggt gaagaagcct ggggcctcag tgaaggtttc ctgcaaggca tctggataca 122280

ccttcaccag ctactatatg cactgggtgc gacaggcccc tggacaaggg cttgagtgga 122340

tgggaataat caaccctagt ggtggtagca caagctacgc acagaagttc cagggcagag 122400

tcaccatgac cagggacacg tccacgagca cagtctacat ggagctgagc agcctgagat 122460

ctgaggacac ggccgtgtat tactgtgcga gagacacagt gtgagaaacc acatcctcag 122520

agtgtcagaa accctgaggg aggagtcagc tgtgctgagc tgagaaaatg acaggggtta 122580

ttcagtttaa gactgtttag aaaacgggtt atatatttga gaacaaagaa caatagaaac 122640

acaatctaat tgtaagagaa atattccatt caagagccac cacataagcc aaactgacag 122700

agtgggaaag gccacactca gtaaagttga tacaaacata ccataaaggt gctactatga 122760

acaagttttt gaattagatg aataaatcat ttggagcaag gttatttggt catatgttaa 122820

gagtaagcat gattcttaca aagtgggaaa attgtctttc aaatgtttct gtcacttctt 122880

accataaagt tcattttaga ggttttagga ttacagtgaa attgcacaga aggtgtgaga 122940

attcccatga atccctgccc cgcacggaca ccgcctcctc cactacagcc atcctgcccc 123000

acagtcacaa ataagtcaca atggatgaat ctacaagaac tcttggttct ttctttttct 123060

ggtgatcccc taatataaca agcctaaatt atcttggaac acccaggtat tttcaatggc 123120

tttctagaag tgatattagt cagagggaaa gtgagtgagg ctattactat ttgagcactt 123180

tcttccaaaa tccacaaaat atatgttaat ttggagtttt tctaacttct ggtttacaat 123240

gtcccttccc agagagtaag atttttaagc ttttagtgag gctggaaaaa aaaattttta 123300

aaaaagagaa ataagctttc ctgtattagg ctgacttatc ccagcggcag caacaagcac 123360

agcccagacc caggaaaagt cttaataata ttatctaatg tgctctggag actctttcag 123420

cactccctca acatagggag aagaaaaaca aattttcctt tgtcttatga tatgagttta 123480

tagagtcttg ttctctgtaa ctagtaactt caagtattct gttttatcta agaagcacaa 123540

cgaaggtcat gagaagccta gcaggccaga actacagctg tctaggtacc ggagtgagtg 123600

ttatgagatc aaccagtgca aggctcttta gaacaaaacc tagataacag acatctgggt 123660

tgcatagcaa tggtcatgtg taatcctgag ttatgaacct gttacaattt gattaactgt 123720

ctctgtcctg cctccgtatc cctgcttttg tgcactctaa gcttgcttca agctagccca 123780

ccccattttg ggaagtgtgt ataaaagtca agcgctctct ttgttctgtg cccagtcttt 123840

ggtcattgag tctgctgggt ctgggtgtac tcagtaataa aaatatcctc ctgtatacac 123900

cccaagatct ctctctggtc ctccggattc tgcaacattt caggcagatt cacatctcta 123960

aaaggccagc aagttctggt caatcccata atgaaaatcc tttaatgaga cttggcacac 124020

gtgacaataa gagactcctt gtataatgcc ctagagttgg attagacaca ctgtgagctc 124080

ttgggtggtg gttctgaata aggcagtttg tgcagcaaat gcaaacacat gcatgggatc 124140

caggcaggaa caaaagcttc cctttacaaa gtgggtgggc atctggaggg agccctcaga 124200

ggtgggcagt ggtcgtcctt gctgactgca cattagccag aggcgtgacc ataattggtc 124260

ttgcagggaa agagcaccac tgaggtcata ggttatgaaa atgtttgtca tcctccagtg 124320

agcaagtcca tcctgcttgc ttgtgggtgt caactccatg gtggatacac tctgggagat 124380

gacaagatgc acacaaacct cctctcacta attatccact accacacact caagaccaac 124440

ctttgctcca gaaaggaata cgtgtctgtg gaaatagaca gagcttaagt attttgtaac 124500

ctggtgaaca tactgtgcaa aaccaaacgt ttcaggaaga ttagctcaga aatgtttatc 124560

aagtgactga agggcagtgg cgggtgaggt gatgggacag cctcagggct gcacatgagg 124620

agggctccct cccccatgca ggcttttcct ccaggagctg caccaggaac tcaaggaaga 124680

tcagggagaa ttctgagaac accctgctgt ggagctgcct agagaagaag aataaatgat 124740

gaaaaatаca actctgagta atgcatgggt ttttgttcat gaaaactctc tctctgaaag 124800

cttgtgaagg tcttgaaata cccctgatta gctgaagaca aacatttaaa ccctccttcc 124860

acagggagtt caagcaggct ggatgtgtcc ttctatggat gatcttcctc agccccttcc 124920

tcttcccagc tcatccctgg ctctctgtgt aaaaagttct catcagcgga atgtggttga 124980

tgaagtgacg tcttcaattt cctcatcttc tatgtggtca tgttattttc ctcatctgaa 125040

gtttaaaaac tcacctgcat gcagcacatg acaggctaaa atctcttgtg gacaaaacag 125100

taacaaaggc acccaccatg gttgagcacc cgtgttgctg acaacgacca ccaggggtca 125160

acgtcctctt cacaatcctg tgtcagagca gcacttgagt gatttcaata acaacttccc 125220

aggagaatca gctgaaaact acttgtccca ttttccatac agatataacc cctctatttt 125280

cctgaagaaa tagaaagagc tgaatgctga atacactgaa tgtctgctgg ttttgcaagt 125340

ttgtgactat atcactttct aatttctgac ctgtgcagac cactgtacag acttttctca 125400

ctggtgggac caggcttcca gatgtcaaat ataaatgagc ttcttcatat aaaagtcaac 125460

acaagctcct catggtttca gtgctcactg aatggagttg gaaataaaac ccacaattat 125520

ccataacaca aattccttgg aagttatttt gggataatga gttcataacc tgtagaccaa 125580

gagtccaaga gtgtttctat tgaagagcct gggggatcaa gacaccaggc aggtgatgca 125640

gacactgtct aaagagtgcc cagcggctct cagagggacc tactggatac tcacgtggga 125700

catcagcaat cactttctca gagtcaccag tgagctgtgc tggttcctga agggtccagg 125760

atagggccaa ggcacctgct ctgtgtcggg gagagtgatt gttccagaaa tcatagaggt 125820

ggtctctatg cttataaaat ctatgttcac agtgagaagt ctgttctgag agggcttatt 125880

cttcagtgaa aggacctctg cccacaaatg ttcataaatg gagcagggca ttcatttcct 125940

caagcaggat cagggcttga gtcatcagca tctcactctt gcaaggctga tgtgtcgttt 126000

gtcttccctt tcttatcatc gaccaggctt tgagctatga aatgccctgt ctcatcaata 126060

tgcaaataac ctgagatcga ctgaggtaaa tatggatatg tctgtgccct gagagcatca 126120

cccaacaacc acatccctcc tctagagaat cccctgaaag cacagctcct caccatggac 126180

tggacctgga gaatcctctt cttggtggca gcagccacag gtaaggggct cccaagtccc 126240

agtgatgagg aggggattga gtccagtcaa ggtggctttt atccactcct gtgtcccctc 126300

cacagatgcc tactcccaga tgcagctggt gcagtctggg gctgaggtga agaagactgg 126360

gtcctcagtg aaggtttcct gcaaggcttc cggatacacc ttcacctacc gctacctgca 126420

ctgggtgcga caggcccccg gacaagcgct tgagtggatg ggatggatca caccttcaa 126480

tggtaacacc aactacgcac agaaattcca ggacagagtc accattacca gggacaggtc 126540

tatgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct gaggacacag ccatgtatta 126600

ctgtgcaaga tacacagtgt gaaaacccac atcctgagac cgtcagaaac cccaaggagg 126660

aggcagcttc actgaatgag gaggttacag ggcttacgat gtttaaagtt gttcagaaaa 126720

taggctaagc aattgaggaa tatgagtaat agaaatatgt acgcactcta tacaggaaat 126780

atttctaata actgtcaccc tatatgcaaa attcgcagag aggtaaaagc agaaatcagt 126840

caagctgatg caaagttccc cacgtaggct ttgtgcagat gtaagttcta aaatcagata 126900

gataaataat ttggagcaag attgcttgat aacatggcta atgctgaata tgattcctaa 126960

aaactggcca aaatatattc caatttgtct ctgccacctc tcttacataa aatgtattaa 127020

aaagtagttt taagaccaca gcaaaattga acagaaggtg cagagatttc ctatgtgccc 127080

ctgcttcaca catgcacagc cttccccact gtcaccatcc tgccccagag tcatcaataa 127140

gttacaatgg atgaacttac atggatggat tggttctttc ctcttccggc ggtcccttgg 127200

cataccaagt ctaaactatc ttgaagcaca acaggttctt cgagtgggtt cctgggaatg 127260

aagccagtta gaggaaaagt gggtggggct attcctatta ggagtctttt ttagaagact 127320

cataaaatgt atatgttcct atagattctg tgactcctga cttagtatcc cttcccagac 127380

ggtaagcttc ctaaatgttt agaggcagat ccatatctat ggaaagaaag caagttctag 127440

tgaatcccat aaggaatgtc ctttaatgag aagtggagac cttggtcatg aggcacatca 127500

tgtatgattt tctataattc ctttagattc actgtaagct tttgagggtg tttctggatg 127560

aggccctttg tacagaaaat gaaaactcag gcatgagttc caggcacaac caaccaactt 127620

ccttccaaag tgggagggaa tagaagaaac cctctcctgt gtgggcgctg gtccccctcc 127680

attgctggct gcacattagc cagaggcatg agcccaatta gtcttggagg gtgacagccc 127740

cactggggtt gctggctata gaaatgcctg tcctcttcca gctgagtgag tcaacctgct 127800

cgcttgttgg agtcaactgc atggcaggtg cactctggaa gatgacaaga tgcacacaaa 127860

ccttctgtaa agtatcaatt actacacact caaaaccaaa ctgtattcca gagacaggtg 127920

tctgcaggga taaacagaat ttaagcattt tttgaatagg gaagacactg ccaaatgcca 127980

tatgtttcag gaagtttaac tcagaaatgt tgatgacata actcagaaac gtgaggtgac 128040

atgacagctt caggggctgc acatgaggag ggctcacttc cccatgcagg cttttcttcc 128100

aggaactcta ccaggaactc acagaagatg agggagattc tgaaaacatc attctgtggt 128160

gctgcccagg gaggaaaaat aagatatggg aaaaaaaact atataaatta ttagatttgt 128220

taatacaaac tatttctgaa gccttgtgga ggtcctgaca taagccatca ttagctgtga 128280

acaaatatct acaccctcct ttcctgggga gttcagttag gttgcgtctc ttcttttatg 128340

gacagtatcc cccaacccct ttatttcctg cacacctgct gctctccatg ggacgagttc 128400

tcatcagtga aatgtggttg atgtagtgag gtcttcactt ttctcattgt attagtcagg 128460

attatctaga gggagaacta acaggataga ggtctgtatt tgacggggag tttttaagga 128520

ggactgactc acacgatcac aagatgaagt ctcatgatag gccgtctgca agctgaggag 128580

caaggaagcc agtccaagtc ccaaaacctc gaaagtcagg aagacgacgg tgcagccttc 128640

ggtctgtcgc caaaggacag agagcccctg gcaacccgct ggcttaagtc caagagtgaa 128700

aaagctgaag aacttggcgt ctgatgttcg agggcaggaa gcatccagca tgggagaaag 128760

atggaggctg gaagactcaa caagtctagt ctctccaatt tctcctacct gcttcattct 128820

agccatgctg gcagctcatt agatggtgcc cagggaggtt gaggttgggt ctgcctcacc 128880

cagtctactg actcaaatgt taatcttctt tggcaatacc ctcacagaca cactcaggaa 128940

caattctttg catctttcag tgcaatcaag ctgacactca gtattaaaca tcacactcat 129000

cttctgtgtt gtcatgttcc tctcttcatc tgaggttaag gaactcacca gcatgtagca 129060

catcgtagct taatgtctct catggacaaa atagtggcaa ggcacccact agggttaagc 129120

atcctgtgtc gccgacagca accaccacag gaccaagtct ctctaccatc ctgtgtcagg 129180

gcatcgcctc agtgattgta ttggcaactt ccctcgagag tcatcttaaa aacggcttgt 129240

ctcatttccc acgaaggtat agcccatcca ttttctcttc ctagcaaaat ggaaaaggat 129300

gaatacacgg aatgtctcct ggtcttgcaa cttggtgact ttattccttt ctaatttctg 129360

atcaatgcag cccactctac aatttttttt ttcactgaaa tgacccacat tctggatgtt 129420

aaatataatt gaacttcctc atttataatt cagaacaagt acctcagagt ttctgtcctc 129480

atgcaccact ctaaacttac acaagttgtt tatttatttg tttcattttc tggcatctct 129540

actgggggtc ttcatcatac ccattttatg ttatttctac aaatgatttt taaaatttat 129600

aggtacttaa ttaaatattc aggaaacaag agaataaaat gaatgtaaaa taaaataaaa 129660

gtaaataaat taatatttaa aataaagaag ccagcagctg aaagcaagga aaatctatta 129720

tgctgggtca gagagtatgg agaactcata gtacaatatc ttctgcacgt taatcattac 129780

ttctactcaa gttacagggt cctctctctt tatatcagag ctttccctaa catgtgcaat 129840

gaagactgaa cacagattcc tccctcaaga ctgacctagc atctctcact gagcctgagc 129900

tgacaagtca tagatatcac atttgtctaa gaaaataatg acaccctgta aagttaccta 129960

ccagcgatat ggagacaatt tgaataatat aaataaagcc taaacttgat aggtagtcat 130020

ttatccttag aaggattgac tgctgtctct acatgtgttt tttatcacag agaagctact 130080

agtgccacag tccaagttgc tgaatatttt atttcctagc atgagttact acagaatgtg 130140

ttcaacatga aagaatgcag ctgttgttaa gggagaggag atgtgattat ggaacacgag 130200

cagggatcca gcagacattc ctctttcacg tttgcccccc aacagagaca ccagtaaaac 130260

gatgaaatga ttgactttag tctccacagt ctaatgtgag atttatacca gatgttttct 130320

gccactgttt tatagtagaa aatataatct ctaaagaaat tccattttta gagacaatac 130380

catcctccag gaagctgcaa atgcccataa cagagagtat tatagtgcct tgtggccagg 130440

agctacaaca cctgggtttg gaaactaatg gacagaaata tcaggttttc ttgccaaatc 130500

tatgatgaaa atttggagaa tgtttctttc catctccata acaatatgtt gtgatggagt 130560

ggaggtcctg gtacataaga aggtatgtgt tcgcagtggg tacagaatta gacccataaa 130620

atgattgttc tactggggtt cccttgttgt tggaccagct gaccaagaaa gtgttgtaag 130680

aggtgtagta tttagtgaat actgtcatat ttttgaaggt accatatttg aagctaccag 130740

gagaaacaga gatacatcaa tctagcctag ggagactcta tgaatttatt ttatttcctt 130800

caaaatgagg taaaaaattg catcagttga aatgccgatg ataatcaagt gatgaaagac 130860

aacatccact cagtgtttta ggtgtggttt aacccaaaag ttatacaata tgtgagaacc 130920

tgaactctgg agccctggcc atctctcaga agaatctaga aggtagactg acctctccca 130980

cagtgtgatg tccatggaga ctggggatgg ctactgtctc aatcttggga tcccggaata 131040

gtcttaatat gattctgtgt gtatgtggat cattgtgtgt aagtgggagg attccaataa 131100

ctgtgtctgt gtgtttgtga gtgtctatgt ttctgtgtgt gagcttgtgt gtctttgttt 131160

tatattaaaa tgagtaattt agtttctgat cattagactg tgtctttgag ggagtgtgtg 131220

ggagaatgtg catgcctgtg tctgtgagtt agtttgtaaa agggtatgtt atattgaatg 131280

tgtgtgtctg ggtccttcag tatttgagcc tattaattta catgaacatg aatttttga 131340

aggtgtgtaa gtataaaact tttgtaaatg taattgtttg aatgctagtg tgtgcagagc 131400

tatttgagtg tgaatgtgtt acttgtatta cttagtgagt gtgtgcccct atgtgagttt 131460

gtttgggtga gtcattacct atgactctac atatgaaggt gttgagggtg tgtgtgagtc 131520

tgtgagcatg ttttcattac ctatgactct acatatgaag gtgttgaggg tgtgtgtgag 131580

tctgtgagca tgtttatgtg catgtgaaat gttgttatgt atgctttgaa agacttgtct 131640

cttgacctca atatcatttg tctgaaaata ccaggtatgt ttaagccctt agaatctaag 131700

gaatagtttg ttgtttagga taaatcctca ataagattaa caactgattt ctcaccaaaa 131760

atcaggaagg ccaaagctca ctggagtggc atatcaaaag tgctaaaata cactatcaat 131820

caaaaattcc atactagcaa gaacaccttc aaaagtgaag gagaaatcaa gataatagaa 131880

ataaacaaaa gctatggagt ccatcaaaac cacaaattcc taatgagaaa tactaaatag 131940

agtcctgcag gctccaatga aaacagagtg gagaatattt aaaaatctta cacctaaaag 132000

aacaacaaca acaagtatcc cagtaatcac atttgtgtaa tgaaaaccaa tattgtttta 132060

tttttgcctt gagtctcatg ttctattcct tttttaaaaa aaaaatagat ataatagtaa 132120

tgacaaattt gaataatgtg cctataattt atggttataa aattcattat aaatttgaat 132180

aatgtgcata taatttataa tgtatgaata tgtaacaaca caataagtga aaatggatac 132240

agctgtagag aagcagagtt gtatgcacta ttgaactaag gcaatcataa tttaaactac 132300

tctgttataa atctgaatta ccaattgtaa tatccaggtt agctataaaa acttaagtaa 132360

aagtaaaaaa aaaaaaaaat tagcaggaca gctgactaaa cgtgcctgac actcttcaac 132420

cccacatgaa ataaccacag aaatgaataa acagctgaga ctagagaaat tcaacagagt 132480

tagatatcat actaaataat aaagcaaaaa gcttacagct gaagaattta atgaataaaa 132540

taaaaatgca gtttacagat tcaataacag aaaataacga gcaaaaataa gaatttctga 132600

gcttgaagac aagtctttca aaataattcc agcagaccaa aaagaaaaaa aaagagaatg 132660

aaagagagaa ggaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaaga 132720

taaaatttta aaaacataga aaccctatag ttttcaaaac acaatttgaa aacaagtttt 132780

tgagttatgg aaaatccagg ggaaaattcc agagggaaaa aaatgaaaat gatgtaggaa 132840

acatatttaa taaaacaaga gcagaaaacg tcccatatca tgggagatag atggttattc 132900

agatccagga aactcaaata ttccaaacag actgaaacta aacagatcct ctctgaagaa 132960

tgctttcctc aaattatcaa aagacaaaga tagagcatga tagagtagga tagtatattc 133020

aaaatattga aataaaaaag tatccagcca ataatataat acctagaaac attattattc 133080

acaaactaac aaatatataa tgtttatcgg actaacatga acaggaaatc catcacctcc 133140

aggctggcct tacaagaaat gctcaagatt cttacatctg gaagagaaaa cataatagcc 133200

acaattatga aaaaatttta aaaaaccata aaacccacta gtaaagccaa tacacaaaaa 133260

agaaaataaa tgaatcaaat cttatcacta caaaaattac aaaactacaa aaataaccaa 133320

taggttaaga ataagaaaca agagatacac aaaacaatga gaaaagaatc aatgaaagtg 133380

aaagaagtaa gacctcttct atctattatt agcttgaaag taagtggatt aaattttaca 133440

tttaaaatac atagactgag ttgaagagaa aagaaaagaa aaaaagaaac aaacaaacaa 133500

aagtgccaac tataggctgc tatgttaagc ccattttgca ttgttataaa gaagtacctg 133560

agtctggaca atttacttta aaaacaaaaa cagtctacaa attcaatgca attcccatca 133620

aaatatcacc atcattcttc acagaactag aattcatatg gaaccaaaaa agacttggat 133680

aggcaaagca agactaagca aaaagaacaa atccggaggc atcacattac ctgaattcaa 133740

actatactat agggccacag tcaccaaaac agcatggtac tggtataaaa ataagcacat 133800

agatcagtgg aaaagaatag agaacccaga aataatgcca aatattatat caatgaatct 133860

ttaacaatgc aaacaaaaac ataaggtggg gtatggagac catattcaac aaatggtgct 133920

gggataattg gcaagccata tgtagaagaa ctatatcctc atctctcacc ttatacaaaa 133980

atcaactcga gatggattaa ggacttaaat ctgagagatg aaaacataaa aattctagaa 134040

gataacatct gaaaaactct tctcaatatt ggcttaagca aagtcttcat aaccaagaac 134100

caaaagcaaa tgcaacaaaa acaatgataa ataggtagga cttgattaaa ctaaaaagtt 134160

tctgcacagc aaaataaaca atcagcagtg taaaaagaca atctatagag tgggagaaaa 134220

tcttcacaat ctatacatcc aacaaaggac taatatctag aatctacgag gaactcaaac 134280

aaattagcca caaccaccaa aaccaccacc aaaaacaatt ccataaaaca ataagctaac 134340

gacataaaca gaccatcctc aaaataagat atacaaatgg caaataaaca tgaaaaaaat 134400

gctcaacatc actaatgatt agggaaatgc aaatcaaaac cacaatggag atgcaagtca 134460

ataccacatt actcctgcaa gaatagtcat aatcaaaaaa taaaaaaata gatgttggtg 134520

atgatgcagt gaaaagggaa cactggcggg aatgtaatct agtacaaaca ccatggaaaa 134580

cagtgtggag attccttaaa gaaaaaaagg agaacaaata tttcatccag gagtcccatt 134640

actgggatct acccagagga agtcaccata caaaaaagat acttgcacat gcacatgaat 134700

gttcacagga gcacaattcg caggtgcaat aatatggaac gggcccaaat gcccatcagt 134760

caatgggtgg ataaagaaat tgtgatacac acacacacac gcacaccatt atatatatat 134820

ataatttttt ttttttttt ttttttttgg ggagacggag tctcgctctg tcgcccaggc 134880

cggactgcgg actgcagtgg cgcaatctcg gctcactgaa agctctgctt cccgggttca 134940

cgccattctc ctgcctcagc ctcccgagta gctgggacta caggcgcccg ccaccgcgcc 135000

cggctaattt tttgtatttt tagtagagac ggggtttcac cttgttagcc aggatggtct 135060

cgatctcctg acctcgtgat ccacccgcct cggcctccca aagtgctggg attacaggcg 135120

tgagccaccg cgcccggcca tatatatata attttatatt ttctatatat acatattttt 135180

tatatatgta catatatacg tgtatatgtg tatatatgta tatatttacc atggaatatt 135240

aagccataaa aaggaacaaa ataatgacag tcacagcaac ctggagggaa ttggagacca 135300

ttattctaag tgaagtagct cagaagtggg aaactaaaca ttatatgttc tcactcatac 135360

gtgggaaata agctatgagg atgcaaaggc ataagaatga tacaatagac tttggggact 135420

tggaatagat gaggggggct gagggataaa agactacaaa ttgggtacag tgtatactgt 135480

tggggtgatg ggtgcgccaa aatctcataa atcatcacca aagaaattac tcatgtaacc 135540

aaaccctacc tcttccccca aaacctatgg aaataaaaat aaaattatgt aaagtaaaat 135600

aaaataaagg tatatttggc tgacagttct gcaggctgta caagaagcat agtactggca 135660

tctgcttctg tcgatggcct caggaagttt tcaattgtgg cagaaggtga aaaaggagca 135720

cgtatgtcaa tggcgataga agagaagaaa aggcagaaaa ttaaggttgt tgggtgggtg 135780

ccatgctcct taaacagcca ggtatcatgt gaacgaatag aatgagaaca cactcattac 135840

cacgtgaagg gcatcaaggc ttttatgaga gatccgtgtt cacgacccaa aaacctccct 135900

ctaggtccta cctccaacac cggagataac attgcaacat gagatctgaa gtgaacaagc 135960

atccaaacta tatcagttac ctacaaaaaa ctcactccaa ttgtaatgat gcacttacgt 136020

tgaatatgaa ggtatggaaa aagttatgta atgcaaataa aaactaactt cacctggagt 136080

agctatactt gtagtggata aaccagactt taagttaaaa gctgtaaaga cagacaaaga 136140

aggacactat gtataaataa agagttcaac ccaggaagaa ggcataagaa ttttaaagat 136200

atatacccaa cgatacagta cccaggtatg cagagcaaat gttatcagat ctaaaaggat 136260

agacaccaat acaataattg ctggcgactt caatccctca ctgaaagcat tgcacagttt 136320

atccaaagag aaaatgaaca gaaaatttca gattaaaatt gcaccagagg ccaggcacaa 136380

taactcacat ctgtaattcc cgcactttgg gaggctaagg caggtggatt ggtagagagc 136440

tcaggagttt gagactagcc tgggtagcat ggcaaaaccc tgtctctaca aaaaaaataa 136500

ataaataaaa aataaaaaac agccagtgtg gtagcatgtg cctaaagatc cagctaccca 136560

ggaggctgag gtgggaaaat caccagaacc cagggagata gaggctccat agagccctga 136620

tggcacccat gcacgccctc ctgggcaaca gagcgagact gtatctcaaa aacaataatt 136680

gcaccacaga ctgaacggac tcaacagaca cttacagaac acttcgccaa acagcagcag 136740

attgcacatt ctttttaaca gcacaatgaa catcctccag aatttaatat atttggacac 136800

aaaaaagtct cgaaattata aaaatatcaa agccatatca agtatcattt ccaaacacaa 136860

tgaaataaac tagaaaccct agaggatgga atatttgaaa caatgcaaat atatgaaaat 136920

taaacaacat gcttctgtgt gaccattgga taaaggaata acttaaaatg aaactttaaa 136980

aatttattga aataaataaa aatagaaata caatatagca aaagctactg gttacagcta 137040

aagcaatatt aagagaaaag tttctagcaa taaacaccta aatcaaaaaa gtagaacgat 137100

ttctcaaaaa ccacccacct atgtgtctta agaactagag aagcaagaac aaacagaatt 137160

cataattgta gaaaaaatag acagtaaata tcagagcaga attttaaaat acagaaaaaa 137220

aattctataa aggatcagca aggccgggcg cggtgactca tgactgtaat cccagctttt 137280

tgggaggccg agggggggcgg atcatgaggt caggtgattg agaccatctt ggccaacatg 137340

gtgaaacccc gtctctacca aaatacaaaa aattagccag gcgtggtggc acacgcctat 137400

attcccagct acttgggagg ctgaggcagg ggaatccctc gaatctggga ggccgaggtt 137460

gcagtgagcc gagatcgcgc cactgtactc cagcctggca acagaacaag actccatctc 137520

caaaaataaa taagtaataa caaaagggat cagcaaaaca gttgttttct tgaaaatgta 137580

aaaaagcaag aaggcattat ctagattaac tacaaatgaa aagagaaaat gcccatatac 137640

atacaatcag aaatgaaaaa agagacatca caatgatacc acaaaaatac aaaagatcat 137700

tagagggtat tatgaacaac tatatgctag agaaaattca agaacctaga ggaaatggat 137760

aaattcatga acacatgcaa actaccaaga ctgaaccaag aagaagtaga aagcctaaac 137820

agaacaatga ataacaggag ataataataa tgaaaagtct cccatcacag aaatgttcag 137880

gacctgatgg tttcacagtt gtgttctact taacttaaaa aaaaatcatg aaaacagatt 137940

attgttaaac tattcaaaaa attgaagaaa aattatttaa ttataatttt aatattattt 138000

ttaaaatttc aacttttatt tcaggtacag ggggtacata tgcaagtttt tttacatggg 138060

catattgtgt gatgctgagg tttggggtat ggatcccctc acccagggag ttagcataat 138120

acccaatagt cagtctttca acccatgcac ctctctctcc ctccccactc cagcagttca 138180

cagtgcctat tgtttccatg gtcatgtcca catgtgctca acctttagca ctcactttca 138240

agtgagaaca tgtgatattt tgtttccttt ttctgtgtta acttgtttac gactatgacc 138300

tccagctgca tccatgttgc tgcaaaggac atgattttgt ttcttttgtg acagagtctc 138360

actctctcac caggcaggag tgcagtgacg cgatctcagc ttactgcaac ctctaagtcc 138420

ctggttcaag tgattctcct gcctcagcct cccgggtagc tgggattaca ggcatgtgcc 138480

actatgccca gctaaatttt gtatttttag cagagagggg gtttcactat attggccagg 138540

atgatcttga tctcctgacc tcatgatctg tctgcctcag cctcccaaag tgctgggatt 138600

ataggtgtga gccaccacac tttttttttat gaatgtgtgg tattttatga ttttatattg 138660

catacatacc attttattca tctaatacat cattgattgg cacctagatt gattccatat 138720

ctttgcggtt gtgaatagtg tggcaagagg catgagtgca tgtgcatttt ttggtagaat 138780

gatttatttt actttggcta tatacctaat gatgggattg ctgggtcaaa cagtagctct 138840

gtttcaagtt ctttgagaat tctctaaact gctttgcaca gtgctgaact aatttacatt 138900

tccaccaccc atgtatgtgt tccctttttct tcacttccca cccagcagct gttttttgtt 138960

taacttttttt catattagct attatgactg gtctgagatg gtatttcatt gttgttttta 139020

tttgcatttc tctgataatt aatgatgttg gaaatttttt tcatgtctgt tggccactga 139080

gattgacagg cttacaagtg tcttagtcca gcagttttcg gtaacaggct atccactttc 139140

attttctctt cctcacatgc cccatttctg ggttgtccat cccaaccaac agttactgct 139200

ggagctgaat ccactagccc gcttccatgg gctgtcagga acacattgca agggtgacac 139260

acacgatgat ccatctctgc agagccaact ctccttctcc agagattcat ccaagaaaca 139320

attttgacta tacctgagct ctgtgacatc tgaggacatg gtttgtatta ctgtgcaaga 139380

caaacagtga gaggaagtca atgtgagtcc agacataaac cttcctgctg agaacaatgg 139440

aaagcttttc ttctaagata aggaataaga aaagaatgcc cagtcttaat aattctaatc 139500

agcatattga tgatagtttt aaccatagaa atttgagaaa gaaaaaaata gtaaaaggca 139560

tacaaattga ggggaataag ttaaattgtt tctgtttaca gacaatataa ctttataaat 139620

tccaaaaaaa taaaaaattc tgaaaaaaca gccactgaaa actaacaaac aaatttagta 139680

acattgcagt atacaaaatt tatatggaaa actcagtagt gttactaaaa actaaaaatt 139740

aactatttaa aaatcataag acaatgtcag ttgcatttac aataatatta aataacttac 139800

ttagtggcca tgcacagtag tttacacctg taattcttgt actttgggag gtaggggaga 139860

atcacttgag gctaggagtt tgagaccagc ctgggcaaca cagcaagacc aatatctatt 139920

tctaaaaatc acttagaaaa aatgttggtc aaataagtga aaatctgtgc attgaagact 139980

atatgacatt gatgaaataa ataaatctat atgcaaatat atgggaaact attccatatt 140040

cacagattga agataataat actgttaaca tgtctatact acccaaagca atctacagat 140100

ccaaagcaat ttctatacaa atgacatttt caacaaacta ctttttaaat gataaaattg 140160

aatcacaaaa gaccccagat gtccaaagta accttgaata caaacatcaa agcgggggga 140220

ggtttcctag tacctgaact gcaaatatgc tatgaaacta caataataaa actgcatgct 140280

gctgactttc taaataaact ttaatattct gaattgaagt tatttgacaa tttcttctat 140340

cattttatct ttactaaagt gttgcatgag tgtttatcta gacagataat gtgcaaagag 140400

tcttcctggg tggtaaaatc ccataagcgt ctccaggagc tccgagctct ctctaggctt 140460

ctcagtatgt tcaggttcaa gagacagaaa gaattctctc agcccttcac tgctttttgc 140520

cctcttgacg gtcagaagtc cagaacatgc tttgtgggga cataatagag gggaccaaaa 140580

tagacacttt cagcaaaccc actataacaa gttctgctgc ccatgggcat cttctccagg 140640

tacatgttgg tcgccagacc ctcaggctca cctacaccat gtggaggagg acctctaccc 140700

acactcattt cagcacaact accgtgtagc tcagcatcag taggtcacac tacaatacat 140760

taaacatcac tcagctaatt acttattgag gttttcattt gtccatatgc tatcaatatt 140820

gggcagtttc aaatgacaac ctagaggact taatgatagt taaatttatg tcttctatta 140880

cggaaaaaca tcccttacct aatgacaggt tcagctgttt ttgccaagat ggtgctcttc 140940

cctggcctgc tagtctccta catgagaagc atcaatgaac tgggcagcac cacacacttg 141000

tcaagtgatc actgggaatg atgtcagcta cagaggatgg ggtagggttg ctcataccta 141060

tgctccttac ttctaggaca catcaggtgt ctatggattt agagcatgtc tgcaccctgg 141120

tggactgcac actttaccca gggagaaagg tctctgagtg tgggtggcaa gccacctagg 141180

tgccaaggta agagaccgag ggcacaagct gttccagtat aataaaatat ataaaataag 141240

aatagttata ctagatatag atcatagata tgattatata tgaatatcat taatcattag 141300

tttatagcaa ttactcttta tcccaatgtt attaataatc ctcgctctat aatcataacc 141360

taggaaaaac caagccatac agagatagga gtggaaggga catggtgaga agtgaccaga 141420

agacaagact gcgagccttc tgttatgccc ggacatggcc accagagggc tccttggtct 141480

agcggtaaca ccagcttctg ggaagatgcc cgttgccaag cagaccgtgg tctagcggta 141540

gcgtcagtgt caaggaaaaa cacccgctac ttagcagacc aggacaggga gtctcccttt 141600

ccccagggga gtttagagaa gactctcctc ctccacctct tgtgtagggg atcagtcagg 141660

cccacccgag ttatctggag gcctaatcat ctccctctga tgctgtgctt cagtggtcac 141720

tctcctagtc tgctatcatg ttccatcctg tatacctggc tctgcctttt agataacagt 141780

agcaaaatta gtgacagtac taaaagtctc tgatatgcag aaataatggc gtaagctgtc 141840

tgtctctctc cctctctctc tctctctgcc tcagctgtca ggcaggaaag gacccctgtc 141900

cagtggacac gtgacccact tgaccttacc tatctcattg gagatgactc acactcttta 141960

ccctgcccct tttggtttgt gtccaataaa tatcagtgca gccagacatt cggggccact 142020

accggtctcc atgtcttggt ggtagtggtc ccctgggccc agctgtcttt tatctctttg 142080

tcttgtgtct ttatttctac aatctctcat ctccacacac agggagaaaa acccaccgac 142140

cctgtggggc tcgtccctac atctgagctt ctcaatggag gtctacttct ctatgagact 142200

agcaccttct gtggagtctc atgctgaatg tctccttctt gattatggtc atcggttatg 142260

cagtgctgta attagaaacc cttacagaat aacctacaaa acaagaatga tactaccttc 142320

tacagacatg acaattctac ctaatgtgca caactggacc tattgacatc ttagccagga 142380

gaggatgcag gcataaagca gatgattttc cgattgttcc accctaccgg gttatattga 142440

acagtggaca caggattcaa caggtaccga ttattaatcc agtgaggaaa ttatagaata 142500

gtcccaagtc taggcagaga agagtagctg aagacagtac tttccctgca gctctgagat 142560

tcactaaaat gtccagctct gtccctcact cgtgaatatc acagactaaa ggacaccctt 142620

cccacagcat tggctctcca tgaagatttg aaattgatgc ccaggcctca gggtctgctg 142680

acagagctgt gacagtggga gtggaactca cacagagcaa aacagagtgt gttgcataat 142740

aaggctgtac aacattttca taatggaggg aatctcttgg tcccaggaag atgacaattt 142800

aatatgtctc aggcctgtgg cgctctcttt aggagctttg tgtgtggctt ctttgtatac 142860

tctggctcca ggaactccag tgagggaaga gattcgtcac ctcctgtgcg aaggggggctg 142920

aagcgaggaa gacaagtggc ctggcttcca cagaacccat aagctaaaac actccgagtt 142980

cccttgactg caagaaatgc agctgtcatc acggtttcaa gtgccagagt ctttaatgat 143040

tatgtttcaa ctcatgagag tgccaggaaa attccaccag tatgaactac tcaaatatgt 143100

cattttgtaa cattacttca ttgcttgctc tcatatcctc catgtttctg aaaaagcaaa 143160

gtttccatgc tttatcatct gcaccaatga ggccatattt aagctatatt ttcatatgaa 143220

cgtctcttga agattttaaa atagcaacaa atgttgcaac aatatgctta accagaaaaa 143280

aaataaagca aagcagtcta tgttgactca tgtgacattg ataatgtata ttagattata 143340

ttggttgctt attcagttgg tcatgggaga agagccttct ttccagccaa agaatactaa 143400

gaactccctc ttctaatgac gaatttcagc tgatcttgct gagaatattt agcaagaaga 143460

cagaaacaga gactcctaaa gggagctcca gagtcctgag atacatttaa gttttcattt 143520

tcctggaacc cagagattcc ccactgttct acaagacaag accccattct atgaccctgt 143580

ctgaggagag ctcaggggca gtgagctccc cctcacatta ccccttcacc ctatgccctt 143640

ggggctctgt ccatgcaaat aagtcccggg ttcaagaacg aatagaggca gggctgtgag 143700

tgttatgctg tgtgctggct ctgagctggg gtctctagta gcactctcca catccataga 143760

tacatggccc ctccgctact ccttctctgc ctgctggctg ccctctgtgg tgagttactc 143820

atgatttcat acgtggggag acacgggatg aggcaaatgt gtctgtgact cacagatgtt 143880

ctctattctc aggggttcac agtgaggacc accttgtgca atgggaggaa gaagtagtgg 143940

tccccttggt catgctcagc ctcacctatg ccgcctatgc acattcaatt tctgaacatt 144000

ctgtttcctg gatccaccat ctcccatcaa aaggtcttca gtgtgttggt gtgatatggg 144060

ttaagggaaa cactaagccc caaccttcag ggcagagcta gcatctccag aaacacatag 144120

taaaaaacaa gaaaacttac agctgagaag tgtgatggct ggggatgcag gcgtgtatta 144180

ctgtgctcaa ggcactgtga ctcgaatcca gagtgaactc agacacaaac ctgccctgca 144240

ggggttcttg ggaccacaag gggaaggatc aggtcaccag ggtgtactta ggaaccactg 144300

aactgggtca ggcacaggag gtgggggtca gggctcctcc ccagggaagg gcttttaatc 144360

tccatgcctt gtaaacctct gacaagccag gcagacacag acatattttt aagctatgga 144420

aaaagatgta cctttcattt tggaggaaaa agatcataag tgtgaaagca aaacttacca 144480

agggccaggt actggaataa ctgtaatcta cataatcact ctaagaattc taagaattta 144540

caagtgcaat catcctcatt tcataaactc accttaaata agagctttct aactgatccc 144600

atatattctg attttgttta tttcttcaac actttattat cttcaaggca tttcactgat 144660

gtcaatttta gaagaatcat atgcaaacag cctctcgtgg tggttgaaag cccacagcct 144720

cgccagtcct gtggatattt ctggatgttc tcagagtctc cattgtctgt agagaagaat 144780

tgtcccaata gttatttcac ttttgtcttc cacaaagttg gaaagatggg gatcactcag 144840

gggaatcgag atcaacaaac agaaagcctg aacccaccat atacaagata ggatgtattt 144900

ttttaggaat atattaattc ccagaccctc aggctcacat accccatgtg gaggggaaca 144960

cacatccact ccttcactca agccaagctg gccatgcagc tcagcttctg caggctcagg 145020

actgcaagct ctccagtgtg ggagtggagc taatgggagg tgaggccaag tctctgccct 145080

cacagagtct catgatgaag atctgatgaa atatttccac agtaacattt ctttggatat 145140

ataaatgtag aatatatttt gaaataatga atgatgtatc ttctgatgga ttcatgttgg 145200

ggaggcaata gaggaaaaat aaaggtaatt ttaaatttct gctcccagct acagcacttg 145260

attttgattt agtgcatgac tgtttgaaat tttttgatgc agtcaacttc agcagcccag 145320

acctggaagc ccagccaata aatgctccag attgggaaat ttaaactgat gggagctgtt 145380

tcatggagga ggaaaaatgc tgagccagtt gtgcgatcat aactattgac tggataatag 145440

aagcctgtgc cctttctgcc agtacctctg gtccgaaacc tgagctaatc accctcacca 145500

agttgagtaa acattgacac ctatactaag tacaccttca tggtggtgca tgctcatggg 145560

gccatctgga aagaaagagg ccttgtctca tcaggaaata aggacattaa acacccaata 145620

gaaatggtgt taaactacta gaggtgtgtt ctcatccttc tcatcctcca ttatgcattg 145680

ccctgagcac ccaaaagatg actcattggc acctaaagga aatcagactg cagaaaaggc 145740

tgagaagtga gcagtgcagg atgcacacct gctatgagct ttgattccac atctggagtt 145800

tccatagttc aaactccatt atactaaata gacaagaagc atgcctgcga ctggggattt 145860

ggtaaaacag atccagattt attctgaaaa actaatgctt atggattatt cttactctcc 145920

gaggccctgg tctacaattt taaaacattt acatgagggc acacactcca aatgatattc 145980

ccttgcagac tttgtatgac catgtgtcag aatggtcaga aaactgttca gaaagtcaca 146040

tacgagtgtg ttttgtgtgc caaaaatatc tttgagactg aacaaaatct ttgcaacgaa 146100

gaggtacaac acagagaact gtgactcttg gaagattggc aagtggattc actcacatgc 146160

ctgtggccag tggcaactat aaattcctcc tgattgttct agatattgtt tcaagatggg 146220

tagaagcata tctcaccaag tcccaaagag ccacatgact ggctaaggca taattcaagg 146280

aaatcgttgc caggtttgga ctcccatgca ctatacacag tgacaatgat ctttctttta 146340

tttcagagtt tactcaaaag gtaagtcaag cactgcaaat cgaatggaaa ccacagtcat 146400

catggagacc acagtcagca gtaaagaaat aaaagataac accttgaaga agacaatagc 146460

caaactcagg caggaaattg acctgcgttg ggatagattt tttcttattg ccttgttctg 146520

gggcagaacg gtgccctgaa gtgggcttgg gaaaagtctc tttgaaatta tatataggag 146580

gcccttccag acctcttgcc agtaacagca cctttagagc tggtaaaaga gcccagagtt 146640

aaacaatatg tgcagattgg tgcagacctt gctaactgca catcagcttg ctatttccag 146700

gcctgtttat tccacagtga gcctcttcac cccttccatc caagagacaa gatgccacta 146760

cagtcttgta aaagtcaaaa acaagatcag cagctgactg aaaggtggaa cagaccccat 146820

gatgtgctac tgattaacct ttgttcagtt aagttatcca atgtaaagcc atgggtgcat 146880

cgctgttgga gaaaacctgt cccacctcaa tttgacccca gataacagac tacctggtca 146940

cataagccta aggaaaacct gaagttgctg ataaagagga gacaagaaga cagataggta 147000

atacccttct gttaatataa aattcttaat gagttctata gttataagta cattatttct 147060

ccttattaaa actaatcttt tttgctgaat gggtggaaga tggtggcttc cctgcaaaag 147120

aaaacatagt tggttctgta aagagtttgc ccatttcttc cactataggc ctgccctggc 147180

ataatacaag ctcccaacgt aagaatttat gattttccat ccattggaga agccatcttt 147240

tccatctatt ataaaaacag aagacacttc attaatatca ctcccactat aggctatgcc 147300

atatccagtg aggtaggatg gctgacagtg gtgcgaatcc aagtaattgg tcaagcactg 147360

ctatgtgtga agaaacacca cagcatactc tacactgtca ctcatgatat ggaattgttg 147420

cctccttagc aatgtaactg agcccttaat atgtggctgg gatgacaagg caatgccagc 147480

ctgcagagtg gaatctgttc ttccctctgg ggttagctac agcctgtggc actcatggct 147540

ggccctactt tccttacaac tggactaaaa gaagcaactg gatatgacct tatatcccag 147600

gatgtaactg tccaaagtgc attctcttta tgtcaactgg aaaagtgtga aagacagaca 147660

ctactgacat aaacagacat cctagttgtt ctgcccacta gccagctctt ccccccaggt 147720

ggcagtcata gatttagaat tgcaagtaga ggccctggct aagcaaacca ccagtccctt 147780

taacaacacc taccatgcca tcatcattct tactgaagaa acctcacaga tttgacaagt 147840

gacactatga agctatatga ccctaggtat tgcaactaca gccaaaggta acacttgtgt 147900

attaatgaac actgaatgtt gcatatatat acaagattag tcccacaata taactcaagc 147960

tatgcaagca ttagataccc atatttctgc tagagatgga tgccctctct cagaacccca 148020

tgacagcatg gtttagttga cttcctaaca catggaagag tttcatatat agtagagctg 148080

gtattctgtt cattgctatc ttcaattgct atggatttta ttgctatctt gcactttaag 148140

tgagaatgta atactgacct tctcaaaaac tcctaggtcc ttgcaccata atgctccaac 148200

aaacacctac tgtaattccg gagactccag aatatttcca actccagttt aatggattcc 148260

cttccaatac atacaaccta tgccctttct aaagaagtag ccagaatgac tatgacacat 148320

gttttccata gaaacgaaat ggaatttgac agtggggaat gatatacagg cagcttaatt 148380

tcaaaatgca ttttaaactt agtatttgag gttttaatat tatttttat actccctgaa 148440

acctgaaatt tcacacttac attttaattc agacttaata gcaacaaata accagaacac 148500

atgaattgcc tgtaatctct ataccttgca ttgtaagcca catttcaagt gtaaccttac 148560

ttgtcagcac agtatgttta ccacaggcat aattgcttgt cctgactgtc cagaaggcag 148620

ggtggtatta agtatgcggc ctctggagct gggaagtctg gctttgtata ccgtctctgc 148680

cactgctaac tggaggacaa tgggccagtt acttcctgta ccccagtttt ctcatatgta 148740

aagtagggtt gttgtaagaa tgaaattagt taatatttag tacctaacaa ctaataggca 148800

ttacatggta gctattggta ttgctatcgt cagagaacac acaggagtcc attgttattt 148860

ttaccctccc cctccaaaca aaatgtgtaa gacactagac atggtagctc tgtaacgggg 148920

ttcgtcatgt attaaactgt gtacccaaat gatatgtcaa agtcctgaca accagcactt 148980

cagaacacgt ccttatttgg aaatatggta gctggagatg ttattagtga agatgaggtc 149040

ttacttgagc agggcaggcc ctcaatgtgg gaagatgggt gtctttctaa gtacaaggaa 149100

atttggacac agagacagag acatacagtg tgccatatga cagcagaggc aaagatcaga 149160

gtggtgcagc agtaaaccaa tgcatgtccg ggattaccag tcacctccac aagtgaggaa 149220

agggcaagga agaattctcc tgagtctcag agggagtgca gcccagctca cacttgattt 149280

tggacttcta gtctctagaa ctgtgagaga atacagtcct gtcattttta agccacccag 149340

tttgtagtat ttcattttgg cagccctagg atattcatac agaattcttc acccaaaagg 149400

aagcactctt tcacacaaac agtcaaagtc ctggatgaca gacaacctgg agactgcaaa 149460

cctccaagga atcaaaggaa gttctataaa ttctaggggc cccatctttc aaaggctgct 149520

cctcaagtcc acacccacac tttggaagga gaatcctgct cttggacatg ggatccttag 149580

tgagccaact gccaataatc caacatcgtc atgaattaaa gatctctgac atttcctctt 149640

caccaagggg aattctgtca agtagtaagt aaaacccttc ttcagtaatc tccacaccaa 149700

acagttctgc atggcttggg acgcctcagg aaacttataa tcatggcaga agaaaaacgg 149760

gaagcaaggc agtcatacat ggtggcagaa gagaggttaa acttttctgt ctctcttggg 149820

tgtaaagata taatcttgag gcaaacagca gaatcaattt tcttacgcct tgaaatagac 149880

tccacctttc tccctttcac cataaatatt cccttcacat taatctaact ttatgtttgc 149940

atcgaactat gtgccttttt ggaagttccg gaagctaatt tgagacagat agacaaagtc 150000

gggagaccct gatgcagaat tccagaggtg acttcaatgt tgctagttaa caacccaggc 150060

attgcccaga tgatgccagc ccaagatcta ggtggactgg gatgccagag agccgccaga 150120

acaagacgca cagacctggt tctcagccca aatcttgcat gcctttctta ccaacttttc 150180

ctttttttaaa cccctgcctt tccttcaaaa ttcaagtggt tgcttgggat gggaatgcgg 150240

tcacttcccc tttaccatta tggttaatac aataatcttt gtaccagatc tctctcttgt 150300

taattggatc ctgcaggtgg cagattccgg accagagtga ggttagaaac tgaatgcaca 150360

tactgggtgg ttcacagaca cggtgttctg tgaagtttat gggtggattc ctggggaagc 150420

ctgcaagcct gttagtgatt agcagaaccg catccagcta ctgggatctg cacgccaggt 150480

gccgtgagcc cctcaccatg ttccctggtc ccagctgccc gcggatggtt cagccttgac 150540

aacgggctcg gtgttctggg tggtgggaga gcaaggggggc cccttgggca gcgtgctaca 150600

gggctgtgaa tccaggggcc cacccggtgt tccctgtgga gtcactgagg gaatgagggg 150660

cttctcaggg cacagagctg taacgccttt gtgcagtggt ggctgaatac agtgacactg 150720

ggcgcgtggt gagaagcggg gcaaggtcag ttcactggac cctccgccct gagcctcaga 150780

tgagtcgggg gtccccagac aggcccggcc tctgccctgc ggcggacact ggagcctttg 150840

ctgtggccgc caccgaggag ccttgacctc aaagcagcgg gaacctctct acccacctcg 150900

gaaacctgaa ggcagcggcg gcctctccca gccaggacct cgccggcatc cgggtctcca 150960

ggcccaaccc tgtaccacat aaaggaagtc cccgctgagc taccgggggg acacagcgcc 151020

gttgggtggg cgggcgcggc ggggcgggaa gcaccggggc agctgccaca gagatgcgcg 151080

ggggctgtcg ggaagtgggc ggtccgggag acgcggggct gatgggacgt gggcggtccg 151140

gggacgcgcg ggggatggcg ggacgtcggc gatcggagat gccagggggc agctgggacg 151200

tgggcggtct ggagaggcgc gggggcagct gagatgcagg tggtccggga cgcgcggggg 151260

ctggcgggtt gtgggcggtc cagggatgcg agggggcagc tgggacgtgg gagttccggg 151320

gacgcgtggg gtcgccagga agcggggtct aggacttaga tccgccttct cttcaggcca 151380

tgcagccccg aagctccgaa tcctgggatg actcctgtcc atgttggaag ggaccctgcc 151440

agtcctggca aggttcaaag gccttagggc aagaaatgtt agtagagtcc tggaagacga 151500

tgtgggaacg ggtagcggac accggatggt gatcgttctc ctacaagacc ttgacatgga 151560

tggggagaaa cagagaagaa ccttccaagt ttgtcccact ggacatgccc accacacttt 151620

accagccctt ttctagaagg cctgtgcgta acacatgaaa aagctccgct cgacctttcc 151680

ctgacctttt aaaagaaaac atttgctgca tctaatccgc ctagatataa ggaggttccc 151740

aaatgtatga cagagtcaga aaattacatg tcttgtaagt taccatgtgc ttgtcttttg 151800

ttttccgttt tttttcgttt ttttgttttt tgtttttgag acggagtctc actctgtcgc 151860

ccaggctgga gtgcagtggc aggatcttgg ctcactgcaa cctctgcttc ctgagtttca 151920

acaattgtgc tgcctcagcc tcccgagtag cttggattac aagtgtgcac caccacgcct 151980

ggctaatttt tgtagttttt agtagagatg gggttttgcc acgttggcca ggctggtctt 152040

gaactcctga cctcaggtga gccacccacc ttgcctctca aagtgctggg attacaggtg 152100

tgagccaccg tgcctggccg taagttacca tgtgcttttt aaaaaaatca tagcaaaggg 152160

gtgtcttctg gaaatgacat tttgaaatgg tgttattaga ccacccctgg aagggacaca 152220

gtaaccacac gtccacgttc gttcagtggg tgagaggaca tggaggggag acctgggcag 152280

gaagggaaga gggttccatg ccaggctgct catatttaga agacattttc atatcattgt 152340

cattgttttc ttgtgtgcgt tttattcctc gctattgtat acatcattgg aaattctaag 152400

tattcttttg aaatatctag tctttctaga tgttctgaag tgcctgatgt atgttaaaat 152460

tacaggtggt aaaataataa attttgtaaa tatctttttg ttaaaattca tatgcagtgt 152520

tttattttat tttgatgttg gtgggggggtg gggaggatga ccaaatccct gcttgatcaa 152580

cacacattgc gtttgtgctc tggttcaggg gaggagagag gaggagaaag tgcagacttc 152640

caggcctctg tgcgcaccgg gaggagagat taatgatcat ctcttctgtc tgtgtgtttg 152700

ttttatttat ctatggatat cctgtgtata aaggatgaac aagtcctatt tataacatct 152760

aatcttttca ggtgttaagt tgccagtgta tgacggaagc agcgttatta aacgaacgca 152820

gcttgtacat attgtgttaa aattcataaa aagccagtct tctgaaaaga acccttgggc 152880

cctccctccg cagcctccgg cgccagctgc aggaagacct ggccagggga aggtgggtgg 152940

aacaagctgc tgctggctgt ggggaaggcg gtggagccca ggcctccaca ggttccccac 153000

aggctcccca caggctcgcg cggatctggt cgctgggttc cgcacgggcc gcgtgggggc 153060

gcctgctggg agcgaggagg cgccatcctg gctcgcctgc tccaggagga cgctctgggc 153120

ctgcgcagat gcagttctcc aggatgggcg cgggcgctgg gggccgcgct ccttgggctg 153180

ctgcgcctcc actgagccgc ctgggtgtga ggacctcacg ccggcgcctc cgggaaggac 153240

gcggagccgc cgcggccgag cccagggctg cagctgctgc ccgacgcccg cgagaaggcc 153300

cttccgccac cgcccgcggg ttcgaacttg gagcagctgc tgccagctga ggcgccagcg 153360

gcgtcgggag ctcctcagag tcagtgtttt gtgctggatt cggcatgtcc tctgaaaact 153420

cgggaatttg tcactgaaat ggtgacagga ggtgagaagt ttttttagac gttgccttcg 153480

ctgaccgggc gccgggctca ggcctggaat cccagcactt tgggaggccg aggcgggcgg 153540

atcgcttgag ctccggaggt ggagaagctg ccttcgtggt aactgtggtc ttaagttcag 153600

ctgagaacga taaatggctt ttccttgaat tggctgcttt tgtgatttct ctcaggctca 153660

tctttcgtca gttaaaaatc cagtggtagg tgtagcttag agacgggaaa tttttggttt 153720

tgttttggct acacgtaagt cttggaaatt attttctttt acgttccaat gtgagcaaat 153780

ccagaaggat gtcagattaa acaccgaatt taacaaattc agccgggcac ggtggctcac 153840

gcctgtaatc ccagcacttt gagagaccga ggcgggtgga tgatgagttc aggagtttga 153900

gaacagcctg accaacatag tgaaactccg tctctactaa aaaaacaaaa attagccggg 153960

cgtggttgtg cgcgcctgta atcccagcta ctcaggaggc tgaggcagga gaatcgccga 154020

gattgcgcca ctgcactcag cctgggcgac agagcgagac ttcgtctcaa aaaaacaaaa 154080

aaaaaaatca atcattggaa tactgttgtt cattacaatt aatgaacgtt tgatacacgc 154140

ataaacgcac taaattcacg agtacatata agtaaaataa gccaaaaaaa aaaaaactac 154200

atcctgtatg atgacacttt tatacattct acagaataga aactgaagtg acatgaaggt 154260

cgggagttga atggagaaaa ggtgagagaa aagagggagg aaggcgttgc aagagaataa 154320

gagaaaatgt tgagggtaat tgatttgttt tctatcttaa taatggtgat ggttacatca 154380

ataatttcca aattgtacat tttgtgtgtt aattagaatt ttatattatt caagctatta 154440

caaataaata cctgtataaa tttcttaggg acggtgtaag ggagatggat aaatcacata 154500

aaaagtcaga tatttctgaa tgtacaatga ataacccttа gctctatctc tatttttgg 154560

taattctaaa atgcagcagt ttttttaat gtttttatta caagaagggt ttcttcaaac 154620

cacaccaggt atgcgtaact ctgggataaa gttggctaag ggagctgtgg gatccggtgg 154680

agaggagcac aggtcccgat cctggagccc attcttgtca catgtgagct ccaggacaca 154740

tctcatagct ccctcatgct tctgggttta cattcacatc tgtaaatgga ggaccaatgg 154800

gcatctgcct ctaacaatgt attttcgtgt gttaagataa tgtatgctaa atgtttacca 154860

cagcacaatc ttttactaag aaattacatt ttttccaaat attatcattg tcttcaagcc 154920

ccaccaccca ctagaaaact tcatctgctc tgtgccttgc cctgtcctca gacatcctgc 154980

ccaagagact tctatatagt aggagacatg caaatagttc cctccctctg ctgatgaaaa 155040

ccagcccagc cttgaccctg cagctctggg agaggagctc aagtgccagg attcccaggt 155100

gttttcactt ggtgatcaga acttaacaca gaggactcac catgttgttt gggctgagct 155160

gggctttcct tgttactatt ttaagaggtg attcatgaag aactacagat attgtttgtg 155220

agtggatatt agagaaacag tggatatgtg tggcagttgc tgaccaggat ttctctgtgt 155280

ttgcaggtgt gcagtatgag gtgcagctgg tagagtcttt ttttttttt ttttttcact 155340

ttttagcgaa catccatggg ttacaaaata atgggttggc ttttcttcca acactttaca 155400

gacaccatca attttcctct tgcttataag gttttaacca gaagaatgct gtcatcatct 155460

ttcctgttct tttagaaaga atgccccctc aactcatctc cacttgtctg catgtatttc 155520

tatttgtctt tggttttcag cagttttaat aagattcacc taaatgtgtg tgtgtgtgtc 155580

gaggggtgtt atgctattgt tctgtgttct ctgagatgca tggattcacc gtttactctg 155640

tctccatttt tgtgaaaaca attagaaaaa aagtcagtgt gagcctagaa acaagcctcc 155700

ctgaagtggg cactggacca cctgggggcg ctcaggaccc actgagcaca agagccagcc 155760

ccagggcagg tgcagagggg tgttaaggtc tggtttcctg tcagccctgt ggcttcctct 155820

ccataaaaca gtttcctttg tggcacatct ctggattcct tatccttttt ttcctgtgaa 155880

gtctgaagaa gaaacatttg tcgtaacaag agaaaaactt tctcatatgc accaaaggca 155940

gagtcaccta cagtcattta ctcctgtttc tgaatgtcaa taaggtgtca atgcttctga 156000

agttaatcag ctaaatctat aaaaggtgcg gtgtttaact cagcatggca gcccagctca 156060

acagaactcc aagggccagt gagcaagcag gcaggataaa gtgcatgctg ggcattgggg 156120

cagagggagt tagcatccag tgcaagagaa gaaagccccc gtggtggtca ttgtcaggac 156180

tccaagccca cagttccaat tgtaggtgat actgggcaaa ggaagagaga ccccaccaat 156240

ggttagtgtg gatttcgagt ctgatggttc cacactcaca ctccaggtga atatgaaaac 156300

atttattaac tctatttttg aggtgtctgc tgagagcagc acaggcctct caagaaattt 156360

caaactggaa tttcctcagt agacaggaaa ggaggctggc tcagggcttt ataatgattt 156420

ggtggtgggg ttgggggtgc gtttctactc aggagaagga gattgtgtga tttaaacctc 156480

acaggggcat cagataaggg agcttctgtg atttcttact agatttacca catgcagggg 156540

ataaggagga ggaagaataa accttaattc gtcagcaacg aggcaccaaa aataggacct 156600

gacgctttat tctccctagc agcttaagaa aatgagtgaa aaagagagag aagagtccac 156660

tatgtgtgaa aagcaaacag gtctaaagaa aataaaaatt ttattactgt aagcacataa 156720

taaaaagaaa gagaagaatg aatgagacag gcaggggtgc tgaatcaatg tcctgagtgg 156780

ggccttttca ttatccacag ttatcagtta attctgaagg tctcaggtca gcttcctgct 156840

tcaaaatatc acaggccctt acagtatatg tgaaaatcct cggtttgtcg ttcttcacta 156900

aagtagcctt ataattagat gtacttctga atttaatctt cagttgtgtt aaataaaaaa 156960

aaacacaatc tacaatttag gaaagtgaga gtttatttt atcaaggttt acagccatcc 157020

catatgctgg aaagcatagc ttttggtaaa gacgagagaa aggcactccc aggaagaagg 157080

ggttgggcag aagctttatg ctgaagggtt tggctaaaca gacataatca acaggttaca 157140

ggaggggcta ctgatgttca tggaggtggt cctcacacat gcatactgaa caaacatgtc 157200

tgtaacgtat gacccctgtt cacttaccag tggagactta gcatttaaat tcattacagt 157260

caggccctat gtgccaatag cagaagcaga aacacaaagg cactcagggt gcagcctctg 157320

taaacggcca gagccaggcc atggtgagtg gtctctgatc aggagaaagg tcctgatatc 157380

actctagtgt tcaatcaaag ctggggttat ggcttgtgga acaggggtca gttcatcagg 157440

ggatgggctg caattgtctt catagtgctt gtctcagtgc cggtgcttac tgagccgcta 157500

gagaaaacga ataacctatt ggcagttaga agacagttta ccttttaagt gtgggagtga 157560

gtggcagaac ccttgcctga catggcttta ggtcttgttt ataatttgac atcttattgc 157620

cacagagatt ctgttctgtc attcttttgg atctctattt taacattagt gttggtcatt 157680

gttgtgtcta aaccgcaaag gggagtgagt gtaagaggcg cgtctgatct tgtcatggct 157740

gggatctcag tttttaggct tttctggagt cccttagatg aacagatgga ctatttagtc 157800

agttggggca cttaggattt tatttttgtt ttacagttca taaatatgaa ccctagtatt 157860

gacattgtgc atattcactg ctgtgttgtg gttaaaatta cctggtaaga ttcccttcaa 157920

agccgttcaa gagcaatatc ctaccctgat gtttcttcca gtaaatacca ttccctgttt 157980

taatgtcatt agaggctatt gaaaagatgt aggaaaatga tagcttaatc tgtcgatgac 158040

tggagtgggt aagatacagt catcactttc aatgctttgt catgcgtgca tgtaatagga 158100

agaggtgagc tctgggggaa aatctctaaa tgtatgggcc ttccagccac caaatcataa 158160

ggtgatgact gatgtctcac tgagggactt gactataatg ctctagtgct agggagagaa 158220

actttggcca aggaagttca agattttctt aaggtttgga caagtttagt tcaagtatga 158280

caattttctt caacattttc agaagattgt ggatgggaat gatgctgagt tatataagta 158340

attctaatgc cttctgtgtt tagataatat tataaacaag actgtttggg tataatgacc 158400

cactacaata tatatacttt tagttgttac accatttcat tttcctttag gattttactt 158460

tctaagttac atgaatcagg tccctaaaat ataggcgtgc atctaaaatt tattctttgg 158520

tgagaatttt tacgtgttcc agaagatatg agaaacttct ttgcgtgaag agcatcccaa 158580

agtcaggcac tcctgtaaaa catgtactta atccttgtct ttggcttatt gatgagctct 158640

gttgaccaca ataaaacttc tgtcatgcgg gctgacttga catcaggtag aggaacagat 158700

tctgaatgta ctactgaatt gagtgcataa cctccagttt cgttactgat gtatgattca 158760

tcagagatga tactagatca aggatttcaa tcggaatcta atctaaaaga tgtgaataaa 158820

ctttcctaat ttagatagta ttacttgtga gcacactgct agtattccag ccatgtctcc 158880

tgtctgtcac actgaattca cgctaacttt gatctaaaag ttaacacttg ttctaatgtt 158940

caaatatgtt atttttattc taatgtctct agattattat ctgtggctat tttaggcaag 159000

agtgaaggaa agcaaggtta actgactaaa aatgagaaaa agcacaacct aatgtaatgg 159060

aagtcaggac atcagcatct ccaggcttgt ctatttctag agttcatgca accaggggat 159120

ttcttttctc atttttacac aaagaaacac ccaaattgtc catttcatct cccattgact 159180

cttatcatct gtctctgtca gtttgcttag aattttggcc tccagcttaa tccaagttgc 159240

tgcaaaaaca tgatttcatt catttttaca gctgcatggt attccactgt gtataagtac 159300

cacgttttct tttttcagtc tgtaactgat cggcatttag tttcattata tgtctttggt 159360

actgtgaata gcacagtgat acacacgtga gttgatgtgt ctttttgttc caatgattgg 159420

ttttctcttg gacatatacc cagcaatgag attgctgagg ggaatggtag ctctgtttta 159480

aattctttga gaaatctcca gattgatttc atcagtctct tgggccaaat tatatttcca 159540

ccaaaagtgt gtaagtggtc cgttatctct atagccttgc ctgcatctgt taatttctga 159600

tctttcagtg atagcaattc tgacatatgt gagaaagtat atcatttggt tttgattcgc 159660

acttatctga tgactgaata tgctgagcat ttttataggt tagttggcca cttctatgtg 159720

tgtatttgag aagtttctgt gcatgtcctt tctccatttc taatggggtt atttggttta 159780

tgctggtgat taagttccct atgaattacc accttacaca cactaagata atcagcattc 159840

aaaaaagaaa aatgaataga aaaacataac cacttgtagg tatagacata ctgaatttgg 159900

aatggtcatg gcttgcatgt tggtattgaa atgggacagc aactttggaa aatggtcttc 159960

acagaaaacc tcataaatgt agctagtgtc accactcaca gaagtagatg gagaatacaa 160020

ctcaagtgtc catcgactgc cagagggatg aagacgccgc ggtgcgtctg taacccacag 160080

ggatgaagac gccgcggtgc gtctgtgcat ctgtaaccca cagggatgaa gacgccgcgg 160140

tgcgtctgta acccacaggg atgaagacgc cgcggtgcgt ctgtaaccca cagggatgaa 160200

gacgctgtgg tgctttaaaa aggagtgaag cactgacata ggctgcaact cggatgggcc 160260

ttgtaaacat tgggtgagtg aactgaggga gacacggaag tctacatcct gaattgtcct 160320

attgacatga agtatgcaga ggaggaaaat ccctagagac agatcacagg gggtgagtgg 160380

aggggaaatg gagagtgacg cttaatggag ctgaggtttt cttttctgtg atgaaaatgt 160440

tcccaaacca aatactggtg atatttgcac aacattgcaa atgtgtaaag tatcactgac 160500

ccgtacactt aatcgtggct aaaattgtaa attttatgtc atgtgtatct caacacaata 160560

gaaatgagca ccacattttg tttagtgact caacaacaat aacatttagg tttaaattct 160620

ggattcccca acagaaccag tgcttcctgc tggagctgga tccatcagcc cccagggaag 160680

ggatggagtg ggtcaggtgc acaggtcatg aagggagcac aaattctaac ccactcctca 160740

agagtccagt caccacctcc agatctatgt ccaaaaacag ctcttcgtat ggctgagtga 160800

cattagcaac aagcacacag ccatgtttgt ttttttgttt tgttttggtg tgtgtgtgtg 160860

tgtttttgat agagtcttgt gtcacccagg ctggagtgca gtggggcaat caatcttggc 160920

tcactacgag ctccacctcc tgggttcaag tgattctcca gcctcagcct ccaagtagct 160980

tggactgcag gcactcacca ccacacctgg ctaatttttg tatttttagt agagacaggg 161040

tttcactatg ttggccaggc tggtcttgaa ctcctgacct tctgatccac ccgactcggc 161100

ctccaaaagt gctgggatta caggtataag ccactgtgcc cagccacaaa caagtatttt 161160

taagcaaaag acacagtgaa gagacttcag tatgagccca cacacaaacc ttcctgtggg 161220

agtttacaga acagcagtgg gtgctgagga cagaagccag cacccaggaa ccagcaggga 161280

aacccagggg gcatttggca ccgcctgaag gctcaggacc attgtggggc tcagtggtca 161340

ggcaggctca aggttcagcc tcagagcagg tgtagcaggc ggcgaaaggc tctgaagacg 161400

gagtttagtg tcaccttctc atttccacta ctaaacaccc tccagcacat ctattctaat 161460

gtgtatgggt gttcatgtgt ttagagaata ttatttatgt tatgaatcta tagccatctt 161520

gtgggtgcat caagttaacc tcttcaacct atgtggaccc tgttcattag gaataagtcc 161580

ctgtatttga ggacctcaca aattaataat tatgtagaat cactttcttt ttcagtctcc 161640

tttccttcct ctttctttct ttctcactca cacactgaca aacacacggg gtgccataac 161700

attaattacc tgatgtatta aagaatattg attcatttgc aacttgacca gtttagctgt 161760

tgttcatgtt gttgtaagat caggaacatg tttctcagct gtgtactcct ctaagctgag 161820

cagcagcttt atttgaaata cacagaaact gaaaacaatc caaatattaa tcagcacctt 161880

cataagtaaa caaattgtgg aaaagtcgtt tattgggata gtacccacta ctacaatcag 161940

taaatgttgg atacgatcaa cagcatggtt caattcacaa gtacatatga tgagtatagt 162000

gagccaaagc acatacatat gattccgttt tataaactgt acaaagtgaa tactcattgg 162060

aaattacata acaaagatca ctaactgact tctccatagt aagagaagcg aaggtatagg 162120

agggagaaat tgtgagagac aaagagaaaa ttgagaggcg aattgatttg ttttctctgt 162180

gaatggtcat taggtcaatg tttgtcaaat ggtgaacata ttgtgtgaag attatatgtc 162240

tgtattactt cattaaagct attataaata aaagtctaat gtggtagaaa aagatgaaga 162300

gagaaataaa aataatacaa gaaaagtcat gaactcctga atgaattaac ccttagtttt 162360

tctctattac ttataaaaac accaagatac agccaaataa tatcacgata tcattataag 162420

aagagtgttt tgtaaacctc actgggaatt tatagctctt tcctagagtt aattttggga 162480

acagttggat ccaattgtga gaaatgcagg ctggacactg agactggctc ttatgagatg 162540

tgagctcttg tctatgtcac atggtccttc catacttggg ggtttacatt cacatctgta 162600

aatgaaggaa acattgactc tcaaagaaca tatttcatgt gcatgtaaaa gtatgaatgc 162660

tagtgagaat taattactta tgaagtataa tcacccacat ccactcttgg acacagccca 162720

ctctgaggca tctgttacag aactcattat atagtaggag acatgcaaat agggtcctcc 162780

ctctgctgat gaaaaccagc ccagccctga ccctgcagct ctgggagagg agccccagcc 162840

ctgagattcc caggtgtttc cattcggtga tcagcactga acacagagaa cgcaccatgg 162900

agtttggact gagctgggtt ttccttgttg ctattttaaa aggtgattca tggataaata 162960

gagatgttga gtgtgagtga acatgagtga gagaaacagt ggatatgtgt ggcagtgtct 163020

gaccagggtg tctctgtgtt tgcaggtgtc cagtgtgaag tgcagctggt ggagtctggg 163080

ggagtcgtgg tacagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tggattcacc 163140

tttgatgatt ataccatgca ctgggtccgt caagctccgg ggaagggtct ggagtgggtc 163200

tctcttatta gttgggatgg tggtagcaca tactatgcag actctgtgaa gggccgattc 163260

accatctcca gagacaacag caaaaactcc ctgtatctgc aaatgaacag tctgagaact 163320

gaggacaccg ccttgtatta ctgtgcaaaa gatacacagt gaggggaagt cagcgagagc 163380

ccagacaaaa acctcgctgc aggaagacag gaggggcctg ggctgcagag gccactcaag 163440

acacactgag catagggtta actctgggac aagttgctca ggaaggttaa gagctggttt 163500

cctttcagag tcttcacaat ttctccatct aacagtttcc ccaggaaccc tgtctagatc 163560

tgtgatctgg atctgctgaa actgcctgtg tcaccttcct cacctgtgac tattggggga 163620

gctgattgtg gacactccag tgtgtgggat ttcttggtga cagcaattgt gtcttctgtc 163680

tagccatgtc tagggctgcc catcaggaag gtcaggctgg aatttttgga aagaggcgca 163740

cctgccatcc accaggaaat tttgttgtct tttgttctgc tagaactaaa tcagacacac 163800

caaggttaac tagcactatc ttcctagctt gagaaacttg atggcaggct tgaataacac 163860

ctgtatgaag ccatcagagc aacaactaga ttaatgtctg ctagaattaa atcaggcaca 163920

ccaaggttaa ctagcactat cttcctagct cgagaaactt gatagcaggc ttgaataaca 163980

cttgtatgaa accatcagag caacacctag aatagtgtct gatttaataa ttgagactat 164040

ggtctagcca aggagacaca taaaacatga tttccatggt tggttcatat tttatattta 164100

ttaatagaat ctggctggta ttataaacag ctttgccaaa atatatgtgt tagtgttggt 164160

cttcggagaa gcaaactctg tgactggatt agcttcgtgt acagtttcct tcgtgtacag 164220

tttccctgtc cactcttctg agaggaaatg cagaggtggt ggaaggggtc tggggtagct 164280

gaatgcatat gagggaagtc ggtccctgag tgaaggagaa agggaggagg actgggtgga 164340

actttcctaa acttctttgt tgttctatga aggtccagca aggtcactga atcagagtcg 164400

tgtcacagtt cccatcaggg acccagtgac tcccagcagt ggctctgctc agatcagcgc 164460

agagcttgtt cgtctcctga gagtggagca caggacgtgg ctccaacacc agccatggca 164520

tggaagacag agagcagccc tgggtgcctg ggtcaggtgc attgtgctcc ctgcaggtgg 164580

agggagggaa gtgctgactc agggcccaga gactgtgggt tctatacaga acatacactt 164640

ttacttcatt tctgtggatg acatagaaac aaacatgcag tctgtaaaca atggtgattc 164700

ctacatttgc cccaattgct ttattcctta attctgcaga atgtcctggc acagaattgc 164760

ctttctcatg tggaattgtg tcgtgtgttg tggatgtgtg agccctactt tcattgtttt 164820

cccccatgta cagagctcct aaatagagaa cagctgaccc tccttctaca ctgttgctct 164880

cctccccaca gagagagcac ataattacct gaggctgaat ctgaggtggg atctgtcctc 164940

tgaacctcag agcctgcaga gacccccagc tgcagattca tggagtcagg tgtttgtaca 165000

tgtgggaacc ttgagctgtt cttttgtcag tgaacactcc ttaaaactaa ttgtgggttc 165060

agaattagga cacccattga tctatcacac ctcagctcat tctgccactc agaatctcca 165120

gaaattcagg aaatggttga atgtacattt ttgtgacaaa tttttctcat ttcacttagt 165180

tgtgagtttg gttagcagaa agtgctacca tttatgggtc ccaaactgat gaagctcatt 165240

tgcttcaaca gaagttagga ggctcctaaa acttctcatc agcccttctc tctgcacttc 165300

atgtgaaatt cagttttacc tggaattctg gtgtgttggt ttagccagag ttccccatcc 165360

tccatgtctg attttcctgg gtatctgatc agtttccttg cccttcacca tacctcggtg 165420

acgtctaatc accctggccc aacatcaaga attctggcag gttggtttaa gcaagatttg 165480

ctgtgcccct gatgtttcct ctcagtaatt ttccatcttc cggaccccac cctgctgctt 165540

ggctttaaat cccccatgtt tccattctgc atttggagtt cagctgaatc tctctcctca 165600

ctgcaaaaca ccattgccct gatcccgaca cctaccatga ggaccctgga taaagtcttc 165660

cttactgtgc tggaacaagt gtctttactt gatatttttt ctttaataaa tctaccttta 165720

gtgcttccta aattgctcaa ggaacctcga aaaataagat aagtgcgatt atccatttta 165780

ctgtgtgtgt atgtgtgaat ttcaatttcc atgtgtggtg tccagaagtc ctgagcacaa 165840

acagttttgc ttctctgtcc aattctttgc ttctgaaagc caggagtcat cccaacattg 165900

gtaaattggc gatttgtttt tactatttag tgactgacat atttcactta acctgaagct 165960

tcatgaacac attgatgaaa agtagataga agacttgttt ggaaatgcca gatttagggt 166020

agactttacc acccacgtgt gtctggagat ctccttagga ttccaagaac agggtggttt 166080

ttttccacca caggacaagg atgagaacct ccaagctgtg atgataaagg acaggcaggg 166140

ccatgtgtgg acaaggatgg gctgctgcca cgtccagagt gttctctcct agcaacgccg 166200

ccatctcctt cctcacactg tggtatttgt cagatgggaa acatgcctag aatttatctt 166260

tgacatatgg atggaagccc aggctagagg catttgacag cttatttctg aacctacttc 166320

tttaaggaat gcccagatcc cttgctctgc ttcctggttc ttaacccctt tagctccctt 166380

ccgctcctgc acccatgcac tgcctcttta cggccacttc cccacaccct tcactgtagc 166440

accattttct tgggctcctt ggaaatatca cagctttggt ttaactcaca gatcaggcac 166500

actcatgggc ccctccagag gttctcgatt tccctccctc aggctcctcc ctggggtcct 166560

aacttggcca tctctatcct ctcttctgag cctggccatc cacaatccat cccatctgga 166620

cttgtgtata gcactgggtt aactcagcag gtatgaattg ttcaaaccct gcacattcct 166680

aaaaaataac taaaaaaaaa aaaacttttg ttcatttatt gctgttacct actgtgatga 166740

gatctccgag tccataaaat attgcacctg ataacagtgt ctgtggatgt ctgtagcctt 166800

gggacatgcg gtacaagttt aatcagtgat ttatagtgaa tgtctacttt tgttttgctg 166860

gagagggctg tcgtctgagt attgtggtca gttccccagg tgttccatag tctatgattc 166920

attccccaaa cacagccctg gacaagagag ctcagcggca ctcccttgt tgtcaacact 166980

tcacacaagc catcttacct cacagctgaa caattacaca tgtgtagaag gctccactgt 167040

gagaggacac ctgagagctt gtgcctggat tctccagggc ttcactcctt gtgccttttg 167100

tctttactta ttttaaattg tatcattttt ctgtaataaa ctgttcctgt gaatagaaca 167160

gttatgagtc ctgtgttttt actgattttt cagcctacag gtggcagatg agaactctca 167220

acacagttgt gttagaagaa ggatttccta gagagaccct gactcaatga tgatacatgg 167280

ctgaagcatt gcatggaaaa cgtaagtgtt caggtatgga atggcaaaat ttgatacctg 167340

gggagtgaca gaatactaca gtctattaca gcagctgagc tgaaatcggt ttctggaggt 167400

aaatgggatt tagaaattat aaatccaact cccaaggagc tggctcaatc aatacataat 167460

gaaatgtgaa atgattagaa atagcctaaa tatgcaattt ccatctgtga gagctaagtg 167520

aaaatccagg agagagttgg cagggagagg gatactgcac caacctcaga ttttgaccat 167580

tttcatttag ggctgatggg ctcatgacca ctagagttag caattacact gtgataaaag 167640

ataaaagctt cacaaactct acccacccag aaggggggctc aggtggtgaa atagggaggg 167700

taaggcatga aacgactgaa atatgggagg atagtgagat gggttctctc tttttgagtt 167760

ttatcttttg cttctttact aatttttgtt aatctggatt tggagaatga ctagtgtaaa 167820

agtggattct gttttgagtc ccttagaatg gaggagaatg tgtgggccaa tgttgtgccc 167880

agagactact acagaacaat agtagatgaa tgtacatgac ccaaacacaa agctttgtgg 167940

ttgctgatgg gagagctgca ctgccctggc ctactggata acagcttctc caaagtgtat 168000

ttaccctgac aatggagatt gcctttctct tttaagtgaa aaaaatggaa cactacaata 168060

aagtagtggt aatgctgtgt gtgtatgtat aagacattct ggagtgggtt tgtgataatt 168120

gggatatgta tcacttatcc ttttatttgt ataaatttat ggggtgaaag tgccgttttg 168180

ttacatggat atattgttga gggataaaat ctgggctttg agtatagcca tcatctggat 168240

ggtgtatatt gtacccatta agtaacttct catcccacat gccactccca ccctcccaac 168300

cttccaagtc tccaatattt cttattccac actctgtatc catgtgtaca tattatttag 168360

ctctcactta tatatgacat gtggtattca actttattct tctgagttct ttaacttaag 168420

atagtggcct acagtttcat ccatgctact ggaaaataca taatttcatt ccttgtctat 168480

tattgagtag taattaaatg tgtatatgta catacacatg tatagtgtgt gtatgtgtgg 168540

ggatgtgtgt gtacatatat gtatatgtat gaacatatac gactgtttcc tttatctaat 168600

catttactaa tagaaactta gtttggtacc atgtatttgc tattgtgaat agagcagcaa 168660

taaacatata aatgcaggca tctatctgat ataataattt atcttccctt gggtagatac 168720

ccagtagtgg gactgctgaa tgaaatatta gttccaatat taattatttg caaaatctcc 168780

atactgtttt ccatagagct tatagtaatt tacatttcca ctagcagtgt ataagcactc 168840

ctgcttctct gcatccttac tagcatctgt tttttgtttt gttccatttt tctttttgac 168900

tgttttaata gtagcttttc tgactggtat aagatggtat ctcactgtgt ctttaaattg 168960

catttttctg atgattaatg tcattgatta ttttttcata tgctggttga tgatttttt 169020

gtcttttgaa aaataaacat tgtagtaatt tgctcatttt taatgtggtt atttgtgggt 169080

ttttgtgttg cttttgtttc ttgtagtttg taaatattag ctctttgtca gatacagagt 169140

ttaaaaatag tttatcccat tctgtacgct ttcggttaag ttttttgatt atttgttttg 169200

ctgttcagat gctttgcttc ttatttgtat taagtccaaa tggtctattt cggtttttat 169260

tgtttacttt taaggttgta gtcatgaatt ctttgcctag gacaatctcc agaacaatat 169320

ttcctagaat agcatctgca actttcagac tctcaggtct cccagttaag tcttttatcc 169380

atattggctt aattttggat atagtgagag atacgggtcc agttttattc tgctgcaaat 169440

ggctgttcag tttttcctgc acaatttata taacaaggtg acctgttccc agtgtatgct 169500

tcttgtctag tttttcacag tcagtttggc tgcaggcatt tgactttatt tatgaaatgt 169560

ctattctgtt ccactcatct atggctttct gctagattgt tacttgattg ttacttgtgt 169620

ataataatgc tactggtttt tgtatgcttt tttcatttat tctaaaactt tactgaatta 169680

actcatcaat tctaggagta ttttgaaaga atattagttt ttttaagtac aaaatcatat 169740

tatcagcaaa cacaaagagt ttgacttcct cttttccaat ttgagtgcct ttatttcttt 169800

ctcttgccta atttctctgg ctaggatttc aagttccata ttgattaaga gtggtgaaag 169860

tgggcatcct tgacgtgttc tgagtcttag gaggaatact ttcaacatat tcctattcag 169920

tataatgttg tttcggagtt tgaaggtgat ttatggagaa tgagagatgt tgagtgcgag 169980

tggacatgag tgagagaaac agtagatatg tgtggccgtt tctgaccagg gtgtctctgt 170040

gtttgcaggc gtccagcgtg aggcgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtacagcc 170100

tgggtgggtc cccgagactc tcatttgcag cttctagatt caccttcagt gacttctgaa 170160

tgcactggat ccgccaggct tctgggaaag ggctggagtg ggttggccgt attagaacca 170220

aacgtaacag ttacacgaca gaatgcgctg catctgtgaa aggcaggttc accatctcaa 170280

gagatgattc aaagaacaca ctgtatctgc aagtgaatac cctgaaaacc gagtacacgg 170340

ccatctatta ctgtactaga gacagtgagg gggaggttaa cgtaggccca tacacaaatc 170400

tccctgcagg ggcgcgcagg gccaactggg ggcgctcggg acccactgag gatgggacag 170460

gtcccagggg cgggtgcagg gggaggtttc ctttctcagc tgcaggaggc gggtttgttt 170520

ttgcaggaat atggagtctt atgaggtttt gatattttac tatggttatt tatcatgatt 170580

ttttaaaatt gggatttgtg ttttagtaat ttttaaattt atatgtaggg gtatttttaa 170640

aaattaagtt ttagggtaca tgtgcacaac gtgcaggttt gttacatatg tatacatgtg 170700

ccatgttggt gtgctgcacc cattaactcg tcacttaaca ttaggtatat ctcctaatgc 170760

tatccctccc ccctcccccc acctcacaac aggccccggt gtgtgttccc cttcctgtgt 170820

ccatgtgttc tcattgttca attcccacct atgagtgaga gcatgcggtg tttagttttt 170880

tgtgattgca atagtttgct gagaatgatg gtttccagct tcatccatgt ccctacaaag 170940

gacatgaact tatcattttt tatggctgca tagtattcca tggtgtatat gtgccacatt 171000

ttcttagtcc agtctatcat tgttggacat ttgggttggt tccaagtttt tgctattgtg 171060

aatagtgcca caataaacat atgtgtgcat gtgtctttat agcagcatga tttataatcc 171120

tttgggtata tacccagtaa tgggattgct gggtcaaatg gttatttcta gttcaagatc 171180

cctgtggaat cgccacactg acttccacaa tggttgaact agtttatagt cccaccaaca 171240

gtgtaaaagt gttccctatt tctccacatc ctctccagca cctgttgttt cctgaccttt 171300

taatgattgc cattctaact ggtgtgagat ggtatctcat tgtggttttg atttgcattt 171360

ctctgtaccc taaaacttaa agaataaaaa aaatccttca aaaataattc ttcctaataa 171420

tatgcactta ttctcctagg ttgtattaac atctgttgat atcttcaact acatagctat 171480

ggcgacatta atttacatct gtagacatat gtgtaaatac acaaacttat gcatacatgt 171540

ctagtctttt atatttaata taataaaatc attataaaat atgtcctaat gaatgaaact 171600

taatgattaa ctaaatataa attatagtaa tccattattc attgcaatga ttctctatag 171660

tttacataaa ttggtatcta tttgtaagct taaatatagt gtattggtca ttttaaaatg 171720

gccaagaaca aatttcaaat gtccctgtca cacaaacaca cacaataagg atttgaggat 171780

ttgagttgat atatatgtca attagctaga ttcagttatt ccatattgca ttcataaatc 171840

ataacatagc tttgcactct ataaatacat agtcaaaatt tctcaatttt caatgaaatt 171900

ttaattatac atttttaat ccgtcctagg tcatgatttt tttctccctg tcaggatatg 171960

attagattgt cctgagaaac tcattcagcc tcctgcctcc tgaaggcttc aaaggcttca 172020

ggaagtaagc tcctggatgg gcagaagcag gcaaatcttt catgtgcaca ggacctggag 172080

catctctctt tggattaagc cccctcctca ggattacagg gctcttcatt tttctcaaca 172140

ggctgttgta ccagataagc acaaaaactt aatttcatta tgctttgctt tttttaaaaa 172200

aaaaaaatga aggtaataat tttaacaata aacatattac aacctgctac acatgagacc 172260

cttcttgtgc ttcgaccttt cttctcagga gtttatatgt attacatata ttcagttttt 172320

ttctgagttg gaatgcttat tacagattat tccccttatt acagattact cttttaattt 172380

atctcttaga atgatttttc gagagcccct gcctgcccgc gcctggtgga atggagcaga 172440

gcctgggctg agccaggcgc gcaggggcct ccgcacgtgc cgcgccggta gcagacgcca 172500

agcgggcgga cagtgagcgt gagaggccgg ctcggagtgg ccgccggagc agtgccgggg 172560

atggaagaac agcccatctt caccaccgga gcacaggtct tccagattga ccccaacacc 172620

aaaaagcact ggatgcctgc gagcaacagg cggccaccgt ttcttacttc tatgatgtca 172680

caaggaacat ctatgggatc gtcagtgtgg acggagccaa ggtgaccata aacagcacaa 172740

tcacaccgaa tatgaccttc accaatgtgt cacagacgtc tgggcagtgg gccgacagca 172800

gagccaacac ggtgtttggt ttggggtttt cctctgagca gcagctgaca aagttttcag 172860

agaaattcca ggaggtggag gaagcggcca agacagccaa agacaagacc caggagaaca 172920

tggagccctc gagtaataat cccgagaatc cgggcatgga gccccatctt ctactccggc 172980

atccagtgtc aacgggacgg acgatgaaag gcctctcagg ccgctgcagc tgacacgcac 173040

ctgcagtctg ggaaccacaa gctgaaggcg gcctcgacgc aaagagctgc ccacgggaag 173100

aggtgggaga tggagctgca gacccggcgg gagagcgacg cccggctgcc cacggcgctg 173160

caggagtcgg tggccagcgt ggagcagagg aagaggccgt gagatccaca gagaggagaa 173220

gaacacgcag ctgaagagga agatagagga gctggaggcg gagctccgag aaaacgagaa 173280

agagtggaag tccccaaaag caaagtaaaa ctactcctca gctcaggtga gtgcaactgt 173340

gtctctgaga agatggaggc ggcagagaga ggatcaaacc ctggaagaca aagtgcgttc 173400

cctgaagaga gacactgagg agagcaaatc cagacagcgc cacctggggg tggaggtgaa 173460

gagtttcccg gaggtgctgg accggaagat ccacaacctg cctgacttcc gcccaggcct 173520

tgcatactgt gcaccaataa ctagggctgg ccgaggccca ggcccctcct gtgagtccca 173580

agcgtgtgtg cgagaccaga tggcgctagg acgttccctg tgtgcgttgc ttctgtaaat 173640
gcaggcgcag tttcttgtat ttccaaacca actgtgccgt ctactcaccc cttcccagaa 173700
tagaaatctc ttgtccaggc acagtgtctc acgcctgtaa tcccagcact ttgggaggtc 173760
gaagcgcggg aggatcacga ggtcaggaga ccgagagcat cttggccaac atggtgaaac 173820
cctccctgtc tgtactaaaa aaccaaaaat tagccaggct tggtggcaag cacctgtagt 173880
cccacctact tgggaggctg gtgcagggga atcgcttgaa ccaggagaga gagtttgctg 173940
tgagccgaga tcgcaccact gtcctccagc ctgggcaaca gagcgagact ccatctccaa 174000
aaaaaaaaaa aaaaaaggaa aagaaaattt cctctcgctt ctctggcctt gtgaggttgt 174060
ggacaactgg aagattttga ctcaggaatc cagaactagg tctaccttca acatttacac 174120
agtcaggcca gggatgttta tatttttcat aagggctgtt gaaaccatat gaactgaaaa 174180
aaagcacttt ctaatccaaa tattgatatt ctttacacca ggtcatcggg ctccttttat 174240
cgaatagcat tcagggtatt tgaatgtcca tcaggcgcca ggcccagggg gcacagggag 174300
aacaacattc ctctccgtca ataacgagag gctttaaaac aactgtttag tggagactta 174360
tcgagatgcc aaacaggttt ctggtgggta cattttctgg cctggggatc acctgcatcc 174420
acgatattgc cctctgcccc ccagtttgta tggttgcgac aatgttcctt ttcttggttt 174480
taatttctga gcggatgatt gtggtgcggg aacagcacac agtgagggtg cctagcacaa 174540
tgcctggtgc aaagtaggtt ttttataaac gtttgtgcgg ctcacacctg taatcccagc 174600
aatttgggag gctgaagcag gcggatcacc tggggtcggg agttcgagac cagcctgacc 174660
aacatggaga aacctcatct ttactaaaaa tatgaaaaaa aaaatagccg ggagtggtgc 174720
atgcctttaa tctcagctac tcgggaggct gaggcaggag aatcacttga taccgggagg 174780
cagaggttgc agtgagtgga gatcgtgcca ttgcactcca gcctgggcaa caaaagtgaa 174840
attccgtctc aaaaaaattt ttttctaaag ccccactcaa aaccagggta ttattagcag 174900
tgtaatagtt gggccacagt tgaaaataca ttcaattcag ttcatgtgct ctcaaatatc 174960
ctttttcctt ttaaagttgt tctcagttgt aatattactc aaaatattag taatttatac 175020
taatgacaca ggttacaata ttgtatacat aatttagtga catttgattg gaaaaaatac 175080
atgttcccca tgtcttgagt atttttttcct tctctataaa atgtatgctt ataattattt 175140
aagtttcaga tgctagcatt atctttttga tatctgggat ttaattttag taggtatact 175200
ggaatgcctt ttattaattc atataataat gttcatattt tagataggat tttaatatta 175260
attttactat ttactgaatt tcaaactttt ctacttttttt tgtttttatg agataaaatt 175320
cacacataag aaaaaatgca tagatctgaa atgtgtcact agagagtttc tggcaaatgt 175380
gaataccttt gtccccagca cctaaggtag cctgaagagc aagtctctcc ccaaaacatg 175440
cgtctttttc tatgcctgtg gtcaaatcct gcatggggaa aggtttcgat ttctgacact 175500

atagatgtat tttattctgc tttgaacttt atataaatgg aatcaaacat tatagacttt 175560

ttttggtaag gggctacttt tctatttttg aggttaattc atgctagcta atgtataaaa 175620

ttagatcaac atattgtcgt ttattcaatt catagacaga ctgtgatatg aaccaccaaa 175680

attttcatgt acatggagag agagagagag aaagagagga agcagagata ttttatatct 175740

gagtcagtcc attaagtaaa taaatgacaa tattttcatt tatttttatg tcagtggact 175800

ttaaatttgt gtccagttta tgaatattat atgcagagct gttacaaata tcttagtgta 175860

agttttctga tgttctattt ttattgagaa aatatgaagt atgtatttct ttattctaag 175920

agtaagttta atttttttca gtggtattga ggcataattg aaatattttt ataatatata 175980

tgtttaaggt gcaccaattg atgttttgat attgtattag tccattctaa cactgctata 176040

aagaaatgcc tgaggctgag gtgggcggat cacgaggtca ggagatcgag accatcctgg 176100

ctaacacggt gaaaccccgt ctctactaaa aaaaccaaaa gttaactggg cgtggtggca 176160

ggtgcctgta gtcccagtac tccggaggct gaggcaggag aatggcgtga acctgggagg 176220

tggagctttc agtgagctga gattgcacca ctgcactcca ctccagcctg ggcgacagag 176280

cgaaactctg tcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaagct 176340

tgacactgag taatttggaa aaaaaaaaag atgtaagatg tttaattgac ttgtgagaac 176400

tcaactcatg cattgtcatg aaaacagcac caggagtcag ttctaaacca ttcatgaagg 176460

acccacgcca tgacccagtc acctccaacc aggtcacact tccacaattg aggattataa 176520

tacgacgtga gatttggggt aggacacaga tccaaagcat atcagatata cattgtaaaa 176580

tgctcatcat agtcaaggta atttgcatat ccatcttctc acagagctac cgtttaattt 176640

tttttaaatg tagagcttgt gtgtgtatgt gtgtctgata acaacaccta agacctactc 176700

ttagcaaaaa tcacttttac aatatagtat taaatacagg aacattgctg tgcattagat 176760

ctccagaaat gattcagctt gcacaactga aactctgtgc cctttgaccg atatcaccca 176820

atttccctct cctcccaggt cgtgggaccc agtactctac tcgctgctat caagaacttg 176880

gatattttag atcctacatg cagatgacat cgtgaagcat ttgtctttcg gcatctggct 176940

tattccactt agcaccatgt cctctagctc catccgtgtt gttgcaaatg tcagaatttc 177000

ctttttttt ttgaaagcca aatgaaattc agtttatata tatacatttt ctttatacag 177060

tcatcaatct atggtcatta aattctttca caaatctaca ctattataaa taatcttgca 177120

attaacatgt atttgacatc ataattttat ttcctttgac gatataacaa gaagtgggat 177180

caccaggtca tatgatagct ttatttttca atttattgac taaccaatct taccatacga 177240

tataaggata ccctcttcac cacattcttg ccaacatttg ttatcttttg tcttgctgat 177300

aataaccatt ttaagtggtg tgaggtgata tctcattggg ctttttattt gaattcccct 177360

gataattagg aatgttgagt acctttttag gatctgtttt tcatctgtgg gtcttctgaa 177420

aaaaaatcta accaggtttt tgccctctgt attaggtcag ttgatatttg ctgttgagtt 177480

gtatggttaa tttatatatt tgggtggaac ttcttgttag atatataatt gcacatagtt 177540

ttttttactg tgcttgcttt tggtattaaa ttcaaataat ttctgaatca atgacgaata 177600

tttttccatg ttgtctatga tttatggttt caggttatgt tcatttttag ttgatttttg 177660

tatatggtgt tagagaaggt ctagtttcat ttcatttttt ttttgcacat gcatgaccat 177720

tttctacacc attgattgag gagactgtcc tttcttcact gtgtgttctt ggcatacaaa 177780

attaggaaga cacataatta aaaaagaaaa catcagatga atattcctgg tgaacataga 177840

cctaaaagtt ctgagcaaaa tactagcaaa tagaatccag aagcacttta aaatgtgata 177900

catcatgatc aagtaggctt tacccctgga aggcaagttt cattcaacat ccaaaaatca 177960

gtaactgatt cactatgtaa gcaaaataaa agcgaaaaac atagattatc tcaatagatg 178020

ctgagaaagc ttttaatagc atccaacatc cactcataat aaaaaccctc aacagactag 178080

gcatcagaaa aatatacctc gaaattataa gagctatcta tgacaaacca cagtcaacat 178140

catactgaat aagcaaaagt tcaaacccct tgagaattga aaaaagacaa ggatgccgtc 178200

tcaccactcc tattgaacat agtattagaa atcctagtcc gaggaaccag gcaataacaa 178260

aaataaaagg cagctgatat ggtttggatt tgtgtcccca cccaaatagc atgtcgaatt 178320

gtaaccacca atgttggagg tggcgtctgg tgaaggatga ttagatcatg gggatgtgtt 178380

ttcctctctc atgctgttct cctgacagag ctctcaggag atctggtttc aaagtgtgtg 178440

gtacctctcc cttatctctt cctcctgctg cagccatgta agacatgatg tttcccattc 178500

tgtcatgatt gtcaggttcc ccaggcctcc ccagccatgc ttcctgtaca gcctgcagaa 178560

ccatgaatta aattaaatta aagaattaaa tatctttata aattactcac tcctgtgtgt 178620

ttctttgtag tgtgagaatg gactaatgca gcatccaaat gggaaaagaa tgcaatgtat 178680

ctgtccaaac tgatgataaa attctatacc tataaaattc taaagactct gacaaaataa 178740

ttcaagagag ataaacaact ttggtaaagt ctcaggatac aaaaatcaat gtacaaaagt 178800

ctccagcatt tctatatccc aaccacatcc aagctgagag tgaaatcaag aacacaatcc 178860

tgtcccactt acaatgctca caaaaaatga agtgcctgaa aatacaggta aaaaacaagg 178920

tgaaagaact gtataaggag aactaccaaa cacagcagaa agaaatcaca aatgacagaa 178980

ataaatgtga aaacatttca tactcatgga ttggaagaat tgatattgta aaaattgtca 179040

tactgcccaa agcaatttac agattcaatg ctatttacat aaaactctca ccagcattct 179100

tcagataaat agaaaaaaaa ttctaaaatt tatatggaat aaaaaaaaga ccctgaatag 179160

ccacagcaat cctaagcaaa aagaacaatg ccagaggcat catggtactg aatttaaact 179220

acaccataaa gtcatggtaa caaaaacagc ttggtactgg taaaagggca gacatgcaga 179280

aaaagtggaa caaaagagaa agcagaaata aagctgcatg cttgcaacca tctgatattt 179340

gataaggctg acaaaacaag caatggggaa aaaactctat tcaataaatg gattctggca 179400

gatatgcaga atgcaagagt gaaggaggtt gggcagcttc tacctagatt tcagaagatg 179460

tgcatggaga accctatatg ccaaggaaga agcctgctgc aggagtggag ccaccacaga 179520

cagtgtctat taggacaata ccaaagatgg ggaaagatgg ggtcggaacc cccattcaga 179580

gtccccacta gggcacttca tagtaaagct gtgggaatgt ggccacaacc ctcaagatcc 179640

cagaatggta gagtcaaagg cagcttgtcc tctcagcctg gaaaaccttc tggcacttga 179700

ctctaacctg tgaaagcagc accatgggct gtgcccagct acagggatga tattcctgag 179760

gtttttggga ccccctttgt cctagtgtgc cctggtggaa gtacataaag tcaagagaga 179820

ctattttgta gctttaagat ttaatatctg ccttactagg ctttaggtgt gtctagagca 179880

tgttggcagt tcctttggcc aatttattcc ttttgtattg acaatattta cccaattcct 179940

gtggcactat tgcaccttgg aagtaaacaa ctgtttaaaa ctttttttt ttttttttga 180000

gacggagtct tgctctgtcg cccaggctgg agtgcagtgg cgcgatctcg gctcaccgca 180060

acccctgtct cctggcttca ctgcctcagc ctcccgagta gctgggatta caggcgctca 180120

tcaccacgcc cgactaattt ttgtattttt agtagagaca gggtttcact gtattagcca 180180

ggatggtctt gatctcctga cttcgtgatc cacccgcctc ggcctcccaa agtgctggga 180240

ttacaggcgt gagctgccac gcccagcctg tttaaaacat tttgcaagct catagctgca 180300

gagaaattgc cttaagactc agaggagact ttggtatttt cagtcggagg ttgaccaagt 180360

gaagagtttg gtcactatta aaaaaactat taaaaaaaag atgactttgc aatctaagaa 180420

ggacatgaga tcaggacaca agagtaaaat ggtatagttt agatgatggt ccctgctaaa 180480

tctcaaggtg aaatgtgatt cacagcattt gcggtggggc cgactgggag gttttgagac 180540

atggggaaag atccttcagg aatggcttgg tatccacccc atggtaatta gtgaattatt 180600

tctgtattat ctactgtgag atctgatttt caaaataatc tagcaaccat cctccccttt 180660

catgtcctcc ctctcaccat gtaacacagc ctgtttcccc tttgccttcc accatgactg 180720

taagctttct gaggccatca catgatgcag atgctgatgc catgcttctc acttagcctg 180780

cagaactatc agccaaataa gccaaataga ctagtacact gtccaaagca atatacagat 180840

tcaatgcaat ttctattaag taaccaatat aattgattac atattttaaa aaaccataaa 180900

atttatatgg aatcaaaaaa gagcttgaac atcaaaagca accctaagga aaagtaacaa 180960

agctggaagc accacattgc cggacttcaa attatactac acagatataa taagaatgac 181020

atcatcgtag tgacaaaaaa taaaaattga tgtaacacaa cagacagccc agaaataaag 181080

ccaaatatct acgaccacct gttatttgac aaaactgaca aaaaatatac actggagaaa 181140

caacccttta ttcaataagt ggtgcttgga aaattgggca gccacacaaa gaagaataaa 181200
accagacttc tatctcacaa tagacaaaaa ttaagtgaat atggattcaa cacttaaaaa 181260
tataaactga atctacaaaa atacttgaag aaaatgcaaa aaaaaagttc tctggacatt 181320
ggcctaggca aataaaacat gactaagatt tcaaaagcaa atgcaatgaa aacacagaca 181380
aacaggactt aagtaaaaat cttctgcaca gaaaaagaaa taatcaacat ggtgagtaaa 181440
caacctgcag gatggtagaa ggtatcatct cacctcagtt aacatggctc atattaaaca 181500
cacacacaca cacacacaca cacacacaaa caaaacacta accaatgctc gtaaggatac 181560
agagaaaaga aaactcttat gcattgttga ggagaatgta aactagtaca gtcactatgg 181620
agagcagtgt ggaggtacct caaaaaacta caaatagaac taccgtatga tccagcaatt 181680
ccactactgc aaatttatcc aaaggaatga aaatcattgt atcagagaat tctgcacccc 181740
agtgtatgtg gcaggacctt tcacaatagc caagatatgg aatcaacaca ggtgttgaac 181800
acaagagaat aatggttaaa gatgatgtgg tgcatataca tgacgaagta ctcatcagcc 181860
ataagaaatg aaatcatgtt atttgtggca atgaggatgg aactggagga cattatgtta 181920
aatgaactaa gccagggaca gaaagtaata caccttgttt tctcactcat aggtggatac 181980
ttaaaaaaaa atggtctcct agaagtaaag aatagaacag aggataccag acgctgggaa 182040
gggtagggta aaggacgaga taggcagaga tttgttaaat aatacaaaat tagagctagg 182100
gaggaggaat agattataat gatctttacc actgtaggat gatacggtta acaataatat 182160
gtagttttaa atagttagaa gaaggatact gagtgttcct aacaaaaaga aatggtttga 182220
gatgatggat gtgctaatta ccctaatctg acccctatgc attatatgta tcaaaacatc 182280
actatgtacc tcatgaatag ttacaattat tgtctattaa aattatattt taaaataaca 182340
caaaattcat tggcagtgac ataaatggag gctctgggat aggtgtgggg ataaagggag 182400
gctctgggat acattacagg cctaacatgt cagtgggcag aggagcttcc attagctttt 182460
tctatttgta gcactgagta gatgtgacat ttctcaaagt ttgccctaca atagagacct 182520
gagttccagg gaggtcttgc aggcagctgt gcagatggaa gaagcaggag tagagggttg 182580
ctggcccatt caacaatagt aggatgatta ttgtgcatgt agagaagtca acattgtttt 182640
aagtagttgc atcactggat gacatgaaaa acaaatccag tggaaatcct taaatattat 182700
tggtagtgaa actgttttgg gtgaggaaat gttcactgaa gttaagtgag ccagtaaagc 182760
tgttaagaac tataaaaaca ttggattgga ttcagctttg tctgaattta atgtgattat 182820
tactggctca ggcaggggtc acaaatcaag atggataggt ggtaccaacc agaaaaagcc 182880
atggaccaga aagattcaca gctgaattta ttcggatgta taaagaagag ttgctaccaa 182940
tcctagtgaa actattcccc aaaaattagg ataagggact cctccctaaa ttattctgtg 183000
agaccagcat tattctgata acaaaacctg gcagagacta aaaaaaaaga taactttggg 183060

ccaatattca tgatgcaaaa atgctcaatg aaatactagc aaactgacca cagcagcaca 183120

tcaaaaagct aatccaccat gatcaagtag actttgttcc taggatgcaa ggttggttca 183180

tatacgcaaa tcagtaagtg tgattcgtct cataaacaga actaaaaaca aaaccatgct 183240

atcaatggac atagaaaagg tattcaatga aatttaacat tgtttcatat ccaaaaccct 183300

caactaggca tgaagaaaca tacctcaaaa taataaccat ctatcatgaa cccacagcca 183360

aaatcatact gaatgggcaa aagctggaag cagttttccc tgaaaactgg aacaagaaaa 183420

gcattcccac tctaaccact cctgttcatc atagtcatgg aggtcccagc cagagcgtgc 183480

aggcaagaga aagaaaagca tcagaaccgg aagagaggat gtcaaaccat ctctgtagat 183540

gaaatgatca taatcccgag tctgtagttt ggtgattgac attaatttgg aaaaattgtc 183600

agtcatcatt gctttaaata tttcttctta acctttctct gttccttctc tttcccatgt 183660

aataccctaa taattgtctc acaattcttg gataagctgt tctggtttct tatgggtgtg 183720

tatttgtgta cttgtatgtt tgtgtgtgta tttgtgtgtt tacttttttaa aaaaaatatt 183780

tctccatttt cagtttggga cattgctact gagatatttt taatttcaga ttttttttcct 183840

cagccatgct gcgtctacat ataagtccat tgaaagcatt gcttaattct gttacaatat 183900

tcttgatatc tacatttttt tgctttttaa gagtttgcat atttcgactt gcataacaca 183960

actgttcctg gatgccctct gcttaactca tcacagccct tagcatatga gttatagcgg 184020

ggtcttaaat tccttgtttg gtaattccaa cttacatgac gtagctgagt ctcattctaa 184080

tgcttgttct gtctcattac actgtgatat ttttctttta gtatgtctcg tgatttttt 184140

agccagaaat tatgtaccag gtaaaagaaa ctgctgtaaa gaggccttta gcgatgtcat 184200

tgtaagatgt ggagagaaat gtgttccata atcctacggc catggcttac tctagcaagc 184260

ttaggccttt gaaaataaac ccttacatga aagtgaaaac ataagtctta gatttggaga 184320

atttgcttgc aaatcaaata tttggaaaat gacttttatc acaaatgtac aaattacctt 184380

acaattgaac aacaacaaaa ccacacaaat taattttaaa atgggcaaag atctgaatag 184440

aaatcgcatc taaaaataaa tataaagaga tcaacttcat tttcattagg tatatgcatg 184500

tttaatattc aaaaaatact actatcttat gaggatgggt aaaatacaca atatagataa 184560

taccaaatgg tgatgaggaa gttgaaaaac aggaacattc actctttgct ggtggtaatg 184620

ctgaaatggc acatagacat gtacagttaa taatttagtg tatattacaa aacagctaga 184680

agagaagatt tagaattgtt aacacaaaga aataatcaat gatggagatg aaagatatac 184740

cagttatcca gatttaatca ctgcatataa taatctttta tcaaaatata taccccataa 184800

agattttgaa ctcatgtatc tatataaatt aggtattaaa aaacagcaat gcaggggaat 184860

ccagctaatt gcacattccc tgaatgtacc ctttcttgtc aaaaaggagt tccagagact 184920

cttgaaaacg tagtgcagtt catgtgagaa atagaggttc agaaatgcct cattataccc 184980

tcctcccttt ggaattcaag cacaactaac cagtattttt cattaaaaca gatcttaaga 185040

ctcagaaaac agattctttg cagcagtaag ataccaaatt ctaacctgac tcaagaatag 185100

gatcacatga cagagagcag accttgaaaa gaatcaaaga cttttaccct aaaatatatt 185160

tatttgacat attttaaaat caccctgcac agttatcttt tgagagagaa atttacgttc 185220

tgtagcgaat ctccttccct ttccaggtct agttgttaga ttagctgaga gtctagcatc 185280

ttttaaatgt catagtagaa aacatttgct atctactgcc tctaacggtg gccacataag 185340

agaattcatc tacataataa gaatcttgtt ctccaaaacc cgttatccta acctatgtag 185400

ggaaaagaga gatcagactg ttactctatg tagaaaagga agacgtaaga aactccattt 185460

tgatctgtac cctgaagaat tgttttgcct tgagatgctg ttaatctgta acttttgccc 185520

caaccttgtg ctcacagaaa catatgttgt atggaatcaa agtttaaggg atctagggct 185580

gtgcaggatg tgccttgtta acaatatgtt tacaggcagt atgcttggta aaagtcatca 185640

ccattctcca ttcttgatta accaagggta acaatgcagt gcagaaagcc acagggacct 185700

ctgcccaggg aagccgggta ttgtccaaca tttctcccca ctgagacagc ctaagatatg 185760

gcctcgtggg atggaaaaga cctgaccgtc ccccagcctg acaaccgtga agggtctatg 185820

ctgaggagga ttagtaaaag aggaaggcct ctgtctcctg catgtccctg ggaatggaat 185880

gtctcggtat aaaacccaat tgtacatttg ttctattctg agataggaga aaaccaccct 185940

gtggctggag gtgagacatg ttggcagcaa tgctcctctg ttactcttta ctacactgag 186000

atgttagggt ggagagaagc ataaatctgg cctatgtgca catccagcga tagtaccttc 186060

ccttgaactt atttgtgaca cagattcctt tgctcacacg ttttcttgct gcccttctcc 186120

ccactatcac cctgttctgc cacattcccc ttgctgagat agtgaaaata ataatcaata 186180

aatactgagg gaactcagag accggtgccg gtgtgggtcc tccgtatgct gagcaacggt 186240

cccctgtgcc tactgttctt tctctatact tggtctctgt gtcttatttc ttttctcagt 186300

ctctcatccc acctgacgag aaatacccac agttgtggag ggggtgggcc ccttcaaaca 186360

cagaaacgtt tttctactga tttcagctct ttaaataaaa agttaagtct ttcaatcaga 186420

aaatctttga attcacctgt aagctgtaat cccctcccca cactgcctca cttgtagctc 186480

ttttatcttt atgaaacaaa tcgacacatg tctcatatgt attgactgat gtctttctct 186540

ctaagacatt aaatttaagc tgcaatcaag ccactttggg cacacgttct caagatcttc 186600

tggggctgtg tcacagggca tggtcctcac atttggctcg aataaatcta aatattttgc 186660

aaagttgact ttttcattaa tagttcttac agaacctact ctgtgctctt tgttacaagc 186720

ataaaatcaa tatagtatta gttataatag tattgggtat accacatatt ggcaatttct 186780

tatgaagtta ggcatagact aacaatggga tcaagtgtaa atgttttaat gtatttatgc 186840

aagttatttt gatatttatg ttctgcagat acttctatca gatttattat atcagctaat 186900

tatttgtttt atgattgggt gcatttttta tagatgataa caccatatct tttctaggcc 186960

tttattggag aaaattgtgt gaaactactc aggactacat gtgaaagtcc ttattggagt 187020

ggctgacaga attgaagtac atttcctctg tagccaccag acacccagat tcctccagta 187080

acaccttaat tttgtttcct gcttggcttt ggtcttcagt cttgtgctat ccagagagac 187140

tctgtcttac aaatccccca ggtcattcta aagccacatg gaccggacaa ttgtcaatgt 187200

ggtgggaagg gtcgcactga acggtcactc tctgtccttc tgagggagcc atactgcagg 187260

cagacatggc agtcctggct caggttgtgt ccttccaagt atccctgccc tcctgcaggt 187320

gtgatgctga tccatgcatc ttcctcccat tcctgggtag agggtctcct tgtttttcc 187380

cagatcttct tccagcagcc actatgtctt cccactgatg tcttcagctt cctcttttct 187440

gcccttccca gcaggatgag gcttttattc ctgaagaaag agagaggagg tgggagatga 187500

ggctgttatt cctgagagaa tgaacagggc tttggagctt ttctttcttc tatcccagtt 187560

tctatgagtt cctccagtac cagtaacaca aaggtgttac tggctttgcc cctgcatgtt 187620

aattctctag caatgtagtg gtgacagtgg aggtgggtct ggatgcattt cagctgcagt 187680

tgctgttttt ctttccagca cagaaccaac ttgggagcta cagggcaaga gctttttgta 187740

atgtgtcctc aatcctggga gaaaagtttt caatagcaat aggaatctct cagttgtatg 187800

ttctctgaga atttaaacaa taacttattt attatactca attttaaaca atgtaataaa 187860

tatgtctaat ttaatcttgc attagcttat gtgacatttg ctggccattg ccccagataa 187920

ggccattttc tcttcctgtt tatccctgca agtgactgac ttttgcaaga tgtaaggttt 187980

cttgtttgcc ctataacatc aataatctga aatattaaag aaaatgtgct aatttgcaga 188040

tcagtaaggt tagttgtttc tgtaaaaata tatatgtttt tttgagatgg agtcttgctc 188100

tgtcaccatg ctggagtgca gtcgtgtgaa cttggctcac tgcaacctcc gccccccttgg 188160

ttcaagcgat tctcctgcat cagcctccat agtagctggg actacaggag tcttggcctc 188220

caaaagtgct gggatttctg gcataagcca tcacacccag ccaaaaataa tatattttaa 188280

ggggtgcata catctccagg ctgagtagga gctttatttg tagtactcag taactggaat 188340

taacacaact attaaggagc attataaata aatagtaagg gtgcactcat taactggaat 188400

actgttcctc attagaatca acacatcctt tagttcatgt cctttgcagg gacatggatg 188460

aagctggaaa ccatcatagt cagaaaacta tcacagggac aggaaaccaa acaccgcatg 188520

ttctcactca taagtgggat cttaacagtg agaacacatg gacacaggga ggggaatgtc 188580

acacaccagg gcctgtcggg gtggggagca aggggaggga cagcattagg agaaatacct 188640

aatgtagatg acaggttgat gagtgcagca aaccagcatg gcacatgtat atctatgtaa 188700

caaacctgca tgttctccac atgcatctca gaacttaaag tataatttta aaaacacatt 188760
atttatatag aaccaaatta ctggctcaca agtaattata ctgtgcaaaa aaccacacaa 188820
atgaaattga gactataaga tttcacttga acaaaatctt gaaaaataga tctaaagtaa 188880
caaagatgac tgactcaata tggtgagagg aaaatgactg ggaggcagga atgagaggaa 188940
cacagggaaa cttttaagtg taattcattg gtatcttgat tgttatttgg gatgcacagg 189000
tgagcacatg tgtaattaca ttttttttcct ttggagacat tttcttgctt tgtcatccag 189060
gctggagctc cgtggtgaca tcatagctct ctgcagcctc agaccctggg tctccagcaa 189120
tcctcctccc tctgccctat ctagctggga ctacagctgt gcaccaccat gctcggcttc 189180
agtgtgtatt caaccagaca ctttaattat gcagtattta ttacgtggca ataatgcctc 189240
aataagggta ttgcaaataa gtggatggat aatttgttca attaagattg atggaaatat 189300
agacacttac atgacaaatg tatgacaatc aagaaaataa aactgtagga aacatacttt 189360
actttttgtt aggtaatcgc aacagtgcat acacatcaca ccatgttctc attacagaga 189420
aaaggttctg caaacctcac ttggtgtgac ctcctgtatg ctgggcttgg ctcagggaga 189480
agtcaggacc agtggtgaga agcacaggcc cagataacca gactcactct gaccaaatgt 189540
gagtgctggg gacattgtac aatccatctg tgttttgctg atatttttttc atctgtaacg 189600
tggaaataac attgatacta cataccatgg tttctgtgca tatggaaaaa taaaagatga 189660
ttggtgcaaa ctttaaatac acacagttta tgtagatcaa ttgtacctca ataaaactgt 189720
tttaaaataa aaattacaaa actataagtt ttataggttt taagggttta tcatagaaca 189780
aacttacaat aagaaacaag aatttccaaa tgctatcaat atcacaaatc tcccccagga 189840
cgctctgaca tgctctgagc cccactctct cctcaggcgt cccatcccag agcttggcat 189900
gtagtaggag acatgcaaat agagccctcc ctctgcttat gaaaaccagc ccagccctga 189960
ccctgcagct gtgggagagg agccccagcc ctgggatttt caggtgcttt cattttgtga 190020
tcaggactga acacagagga ttcaccatgg agtcatggct gagctgggtt tttcttgccg 190080
ctatttttaaa aggtaattca ttgagaacta ttgaaattga gtgtgagtgg ataagagtga 190140
gataaacagt ggatacgtgt ggcagtttct gaccagggtt tctttgtgtt tgcaggtgtc 190200
cagtgtgagg tgcagctggt ggagtctggg ggaggcttgg tccagcctgg ggggtccctg 190260
agactctcct gtgcagcctc aggattctcc tttagtagct atggcatgag ctgggtccgc 190320
caggctccag ggaaggggct ggagtgagtg gcacatatct ggaatgatgg aagtcagaaa 190380
tactatgcag actctgtgaa gggccgattc acaatctccg agacaattct aagagcatgc 190440
tctatctgca aatggacagt ctgaaagcta aggacacggc catgtattac tgtaccagac 190500
acagtgagag gaagtccgtg tgagcccaga cacaaacctc cctgcagggg cacgcggggc 190560
caccagaggg tgcccaggat cccctgaaga cagggacagc ccaaaggcag gtgcagatgg 190620

atgtcaagag ggtctgtggc ttcgtctaca tctaactgtt tcctggtgag cctctgtata 190680

tttatttttc tgtgcccact aatgaggttg gtaagtttaa acacttttt ttttgagatg 190740

aagtctcgtg cttgtgcccc aggctggagt gcaatggcat gatctcagct cactgcaaca 190800

tccgcctcat gaattcaagc gattttcctg cctcagcctc ccaagtagct gggattccag 190860

acaactgcca ccacgcccgg ctaatttttg tatttttagt agagacaggc tttcaccatg 190920

ttggccaggc tagtctcgaa ctcctgacct caggagaccc tcccaccttg ggctcccaaa 190980

gtgctgggat tacaggcatg agccactgtg cctagccaaa aaagacttca ttattatagg 191040

aggaaaaatt ctcatctgca agtgtcactg atggaagcag aaaaaatgcc caggaagtca 191100

ggtgaggctg tagacactgt caacccagga tgcaaatctc accacaagtg caggagaaag 191160

ggcagggggt tgatggatca tcctaactaa cgtatggttt aagctgagcc cagcaagacc 191220

ctcagtgcct ccctaaccac agttgccctt cagggataac ccatgtgctc aacagcagcc 191280

acaccttagt atctccactg tgcagtcatt gtctaggaca agctcccagg atgtggggct 191340

ttggcacaaa ccaggtcatg gatgtcagag aggggcagct gggtgtctgg tccataggct 191400

ccctgatgtt ggagggttga gaggtgcatt ctctgggcca acatatactc tagggatatt 191460

tacttcagaa cacataattt tatttgttgg tttatggtta atggggtatt catcccttca 191520

atcatttgtc ctttgattta caaaaacatt ccaatttcac tttggaagta attttattat 191580

gtgcaattaa gtcattattg attatagtca cactattttg ctactaaata gtaggtgtta 191640

ttcattcttt ctaactctgt attttgtacc cattaaccat atccacctgt tctctggccc 191700

ccactagcct cccagactcc agttaccatc cttctaccat ccgtgttcct gagtttaatt 191760

ctgttgattt ttagagcaca cacataagta agaacctgca atgctttttt tttcagtgcc 191820

tggtcttttt cacttaacat agtgacctcc agttccatcc atgttgttgc aaatgactgg 191880

atctcatgga atacctaatt ttattcggtt ctttcatatg acatagagaa gcaagcatgc 191940

agtctacaaa caactgtaat tttcacattt accccaaatg aattattact tatttctgtg 192000

cagggtccag gcacatagta gcctttctct tgagggactg ttaaatttag agtgagatca 192060

cttgtttctc atattatatg attcctgtcc atgtgcagag atcttaagta atctgcttct 192120

ttctgcacac taactctgac cttctcgaca aaaagagtag agattttcat gtttcctgag 192180

tctggggtag gagttagtcc tacacaactc agagcctgca gagacctccc agtgcagttt 192240

tatagacaca ggtgctttct catggggggt gagacctcca cttcctgtga ttgctgctca 192300

gatctaactg tgatttcaga tttaggacac cattaggctc tcaaaccatt tctattctaa 192360

aaatcagcct catcatagaa aatggaaata attcaatatc catttccctg accgtatttc 192420

atccttgttt ttaatttggt gcaagtttat tacatatttg cctgaatcta acttcagaat 192480

caactgaatt ggtctagaaa tctcaaaaat tgaacagaag tgggttttat tatttttacc 192540

aaaatgtgtg taggtagggt ttccaatgta tcatccagaa cttgtgcatg ctaacaactg 192600

tttttctcag tcaattatca gcctggtgaa gcccttgcaa acccccctcac tcacctgtgc 192660

tgcctctgga ttctctgtca caatcagtgc ttcctgtagg cactggatgg aaagcacagg 192720

agtgggtcag gtgcatacgt gatgagtgga ggatgaattc cagcccactt atcatgaatt 192780

cagacaagcc cacatgttcc cacatgcact atatcttcag acaagcagat gtgtctgcac 192840

atgaattctt ctttcagaca aacacgtctg tcccctcatg gactcttgcc acacacaagc 192900

acacgtggct tcttgtggac tgtactttca gacaagcaca cattgtttca tgtggacatc 192960

ttcctcccac aaatgcattt tcccctgagt agactcttct cccacaagcc catatgtcct 193020

cacatggaca tttctcacag gcaaacaccc atttccccat gtagtccctt ccctcagaca 193080

agcacacgta ttcccaggta gactcttccc ttagacaagc acagctgttc ccatatgaac 193140

ccttccatat gacaagcaca catgttccca tgtgaactcc cgtataacaa gcacacatat 193200

ttcctcacgg gctcatcact cagataggtc tgcatgtcca catgtggact ctactctcag 193260

acaagcccac aggtcctcac atggactctt ctctcaaaca cccgttctcc attgtagact 193320

cttcccttag acaagcacgc attttcccat gtgaactctt ctgcatggga agcacacata 193380

ttcccacagg gactcttctc tgaaacaccc attctccatt gtagactctt cccttagaca 193440

agcacgcatt ttcccatgtg aactcttccg catggaaagc acacatattc ccacagggat 193500

tcttcactaa gacaagcatg attgtctcca ctgtgaccct tccctcagag aagtacactt 193560

gtctacatat ggactcttct ctcagacaag caaacatgtc cccacgtgga ctctttcttc 193620

tgacaagcac acgtgtcccc atgttgttat aatcattttc tcacctctgt ctcacaaagt 193680

tgccctgtcc tccaagaata attttgacct ctcacttctc attcacacta tggtgattgg 193740

tgcgcagcat tttcacccaa gagaaatgca ggcagctctc agaatttatt gtgatggagg 193800

caggaagaca aacacaaaga taaaacttgt cgctaccttg ctgggctgtg ttctgtgcag 193860

agtctctgaa ggctgccctg gggctgtgtc ctaagctgta tctctctgat tccactagga 193920

gaatgcacat agagaaattc aagctgaatg gtgtcctgat ccctgcctca ttctgctatt 193980

cttccctatt cctcagaaat tcacccaaca ttgccctctg tcttgtattg tctacattct 194040

cacagactct ctcatagaac ttcagcttca atggtcagag ccctggtcac ttcttcccaa 194100

ctctccgcac atgccaagtg cacattagag actcaataat gaggctcacc aggggcagta 194160

gtagtttcat ctatcacagt ggagatgaaa atccatgatt taaaataggt ttctaaaaaa 194220

gaaaatatgt ctcacatcaa acacaaatga gagaatgcaa cggcataatt cattttcagg 194280

tttttcatat gtaaatctcc taaagtacat aatttagttt ttagtgtggt tcctgatcca 194340

tgaatccttt tgccttcttc attatctttc attcaaacaa acagagacca tacccactgt 194400

tcacagtgta gcctcatgga gaacatcttc accagtcagc ccagtcagtg agtgaggcct 194460

ttaaatcctt catgctaatt caaatttctg gctttattct tagtagaccc caggttttcg 194520

gggatgttgg gttgtgccag cactcctaaa taagggagat agaaattatt tcctcaggca 194580

tcctcttgca acatttggac aattgcccat agtttgatta ttgaggtgtg atgcatcaaa 194640

ataatgttag ttcaatcttc tctcaaccag tcattgaaca ttgaaatttt gtaattattt 194700

atttggatat ctctgaagtt tacctcttga atatttaggt catattataa atagtttaag 194760

ctgcctacta ggtaaaatga tctgctgcag aattttgact tccttgctgt gcatttttgc 194820

atttaaattg aagtttctat tactcgtgtg tctagaatgt aaaaatacgt cttacatttt 194880

ctcgaatttt tcatttcact ggagtttcca gaagatgaga aaacctccct tgtgtataaa 194940

atacctggta acacattgct caatagtttc gttgctgaga ccagctcagt cgggagaccc 195000

taacccagcg gtgctagagg aattaaagac acacacagaa atatagaggt gtgaagtggg 195060

aaatcagggg tctcacagcc ttcagagctg agagccctga agaaagattt acccacgtat 195120

ttattaacag caagccagcc attaatattg tttctataga tattaaatta actaaaagta 195180

tcccttatgg gaaatgaagg gatggaccga attaaagggg gtgggtctgg ctagttatct 195240

gcagcaggaa catgccctaa ggcacagatc actcatgcta ttgtttgtgg tttaagaacg 195300

cctttaagcg gttttctgcc ctgggggggc caggtgttcc ttgccctcat tccggtaaac 195360

ccacaacctt ccagcgtggg cattatggcc atcatgaaca tgtcacagtg ctgcagatat 195420

tttgtttgtg gccagttttg gggccagttt atggccagat tttgggggggc ctgttcccaa 195480

catttcctct ttaatttttt tctcctctca tattgtactg ttataagcaa tgagatatca 195540

ggacacatca tcaacacttt gctaagaaat atcttcagct aaattcccag agtatcatat 195600

actaatccta attttaacta aggtaacata attaagatac attctataac aagtcacaca 195660

tattatccag tatccagtaa catgtttgtg acagaaacaa agcaggtgct tcctctgcaa 195720

agggtcatct gaggtctgag ttgagggtca cacaggtatt tttctggttt acaagggtgg 195780

gaacgacaac agtaataacg actctgaaca gcactggccc ttccttgaaa ggttgcaggt 195840

aaagctactg ctgctatatc aaattaacac cttactagaa taaagcccag agggagggtc 195900

cacatgctag gtcacagagt gaggagaaat ggagctgtgc tctgctctcc acactaccta 195960

caagatccca gacacacgcc caggttccac tgatgcaagg catctacagt gcagttctaa 196020

ggcacctgct tcctggggca gggagcatcc tcctgtcaat tgcgcacctg ctccttctgc 196080

aagctattaa gtgagcactt ctattgccat gaattataca tgttctctct cttaacatgt 196140

atattgaaca tgcttactta cattgcattt tatttttctc tgaaatacac tggatgagca 196200

gaagaaaata aatcacaccc ctgatgcttt ccacacatac aaagattcct gaaggcagag 196260

ctgactgata tcctcaccag tagaccactg cctttcagag atgatcttgg tattcaagtt 196320

ccagcaattc ttgaagttaa agggcacctc tatctcctct ccactgcttt gcacctcacc 196380

tgatatcagc tttctcatta gaatgccttg tgtttaagga atgagagttc ctgtcacagg 196440

tgcaaaggcc caggttctcc cactggctcc agtccagggc tagggacacc tgtaagacca 196500

tgatatcatc tgatacataa cctttacatc ataagcttta cataaccttt acatacataa 196560

catcacacat agcattcatg atacacacat cagatcacct ttacatgctc taacatgtaa 196620

agattaggaa agtcatcaag ctcattctta tgtcaaaaaa catctgcaca atttgaacat 196680

caacaatttt tgaaatctat caaggaattg aaattgcaag ggaaattacc cattccaaat 196740

actgaagata cagacatgtc caggatcaga gttgacactg gctgaactgg aaaagaactt 196800

gaagaaagca cgagttggtg agagcacaca catggtaaat gctatgaaag cctaaacggc 196860

agatgtggac tagggtgaga ttcctgggga cctacactcc atagtcttct gaactttcct 196920

tcaaaatctt ccagattctc aggtatacaa tccaaataat ttttttatgg gtctgaattg 196980

gggaggatta attactgaga aatgtaccaa gagccttcta aaaaaaaaaa atcctatagg 197040

aaatgagatt ttccagaacc tggaggaacc tacagttccc taaagacaga cactgaggag 197100

aataaatctc gacagcgccg cctggaggtg gaggtgaaga gcttcctgga ggagctggac 197160

cggaagatcc acgacctgaa tgactcccgc ccaggcctcc caagctgggc accgacaact 197220

agggctggtg gaggcccggg atccccaccg tgagtcccaa gcatgtgtgc gagaccagat 197280

ggcgctagga cgttccctgt gtgcgttgct tctgtaaatg cagacgcagt ttgtcgtgtt 197340

tccaaaccag ttgtgctgtc cactcgctcc tttccagagt agaaatctcc tctccgccgg 197400

gcgcggtggc tcacgcctgt aatcccagca ttttgggagg tcgaggcggg cggatcacga 197460

gatcaggaga tcgagaccat cctggctaac acggtgaaac cctgtctcta ctaaaaatac 197520

aaaaaattag ccaggcgtgg tggcaggtgc ctacagtccc agctactccg aggctatggc 197580

agtagaatcg cttgaacccg ggaggcggag gttgcagtga gccgagatca ttccactgca 197640

ctccagcctg ggcgacagaa caagattctg tctcattaaa aaaaaaaaaa aataggcttc 197700

aggaagtagc tcctagatgg gcagaatcgg tttaaccctc tgtgtccaca ggatctggag 197760

cctctctctc cttagattag gccacctcct caggattaca gggctcttca gttttctcaa 197820

catgctgttg ttgccccaaa taaacacaaa agcactttat tttcttatgc ttacctttaa 197880

tttttcaaaa caacataaag gtgataattt taacaataaa catattacaa cctactatac 197940

atgataccct tcctgtagtt cgaggtttat tctcaggaat ttatatgtat tacttatttt 198000

caattgcttt ctgatatggg atgtcaatgc cactttacta cagtctttat tcttttaagt 198060

tatctctaaa atctctaaaa attaatcttt ccaaagcacc actcaaaacc agtgtattat 198120

tagaacttgt gggtgtaatc gttggaccaa tattaagaat aaattcttaa tggactaact 198180

cagatataaa atttctgtcc ttcctctctc tctacatata tacataacga ctttgaggtt 198240

tcagttgaat cagtccattc attgaatgta tgacaatagg ttgatctaat tgtatacgtt 198300

aaatagcatg aagaaacctc aacaatagca aaagtagccc cttaccaaaa acagctctat 198360

tatgttagat tccacttatg agaagttcaa aagagaaaaa catggatctg tattgtcaga 198420

aatctaaaca tttccccaca caggagctga ccacaggcac aggaagacct gtgttggggg 198480

atggactgct cttcagtcta ccttaggtgc cggggacaag agtattcacg tttggcagaa 198540

actctctagt gagaaattcc agatctatgc atttcctctt atatgtaaat tttctcataa 198600

aaacaaaaaa taatgtataa aataatttaa aattcagaac ataataaaaa tgacattaca 198660

tgcctatcca aaacattcag taatgaacat tattatatga attaataaaa tccattcaaa 198720

tatacctact gaaattaact tctggaaaat aaaaagacaa gggtaacatc cgtaacttaa 198780

aaattaataa gcatatattt catagagaag aaaaaggtag tcaagacata tgtggaatgt 198840

gtattctttt ttccaatcaa atgtcattaa actatttaaa caatttttta acctgtgtca 198900

taagtataga ttactaatat ttgtctgata ttacaactgt gaacaagttt taaagaaaaa 198960

aggatatttg acagcatgtg aactaaattg aatttattct taatattgag tccaacgatt 199020

acacccacaa gttctaataa taccctggtt ttgagtggtg ctttggaaaa attaattttt 199080

agagatttta gagataactt aaaagaataa agaatgtaat aaagtgacat tgacatccca 199140

tacataacaa catattgatc tatttttttgt tgatggactt taaatttgtt tctagtttat 199200

gaatattata agcaaagctg ttacaaatac cttagtgtaa gttttcctat gttgtctcat 199260

ttttattgcg aaaacatgac gtatgcattt ctttcttgta agagtaattt taacttttttt 199320

cagtttcatt gaggtatatt tgaaaaaatt ttttaaaagt atatggttga ggaacaatgc 199380

accacttgat gctttgtctt aggccattct cacattgcta taaagaaatg cctgagacta 199440

atttgaaaaa aagaaaaaga tgtttaattg gctcatgatt ctgcaggctc tataggaaat 199500

gtagttgttt attcttctgg ggagactcag gaaagttaga atcatggcag aagacaaaga 199560

ggagcagggc aatcacatgg ccagagcagg agccacagga ggcgtgcggt ggggggggtgc 199620

ggggcgggtc tacacaccgt tagacaccag atcttgtgag aactcacgca ctgtcatgag 199680

aacagcagca ggagttgttg ctaaaccatt catgaaagac gtaccccatg acccagtcat 199740

gtcccaacag gtcctacttt caggaatgag gattataata taacatgaga tttgggtcaa 199800

gatacggatc caaaccatat cagatacaca ttgtaaaatg atcatcgtag tcaaggtaat 199860

ttgtgtgtat atcatctcac agagctacaa ttttatttttt ttaagtttac tgcatgtgtg 199920

tgtgtgtctg atgagaacaa ctaaaatcta ccctgttagc aaaaatcgtt tttacagtaa 199980

agtattaact ataggaacat 200000

<210> 109
<211> 700
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> base_modificada

<222> (19) . . (19)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<220>
<221> base_modificada

<222> (46) . . (46)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 109

aggttctggg ttataaacnc tgtagactcc tcccttcagg gcaggntgac caactatgca 60

aatgcaagtg ggggcctccc cacttaaacc cagggctccc ctccacagtg agtctccctc 120

actgcccagc tgggatctca gggcttcatt ttctgtcctc caccatcatg gggtcaaccg 180

ccatcctcgc cctcctcctg gctgttctcc aaggtcagtc ctgccgaggg cttgaggtca 240

cagaggagaa cgggtggaaa ggagcccctg attcaaattt tgtgtctccc ccacaggagt 300

ctgttccgag gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct 360

gaagatctcc tgtaagggtt ctggatacag ctttaccagc tactggatcg gctgggtgcg 420

ccagatgccc gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc tatcctggtg actctgatac 480

cagatacagc ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaagt ccatcagcac 540

cgcctacctg cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgcgag 600

acacacagtg agagaaacca gccccgagcc cgtctaaaac cctccacacc gcaggtgcag 660

aatgagctgc tagagactca ctccccaggg gcctctctat 700

<210> 110
<211> 688
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 110

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
20 25 30

Gly Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

```
        35                  40                  45

Gly His Ile Arg Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
                245                 250                 255

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
            260                 265                 270

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
        275                 280                 285
```

```
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    290                 295                 300

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
305                 310                 315                 320

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
                325                 330                 335

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        355                 360                 365

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    370                 375                 380

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
385                 390                 395                 400

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                405                 410                 415

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            420                 425                 430

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        435                 440                 445

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    450                 455                 460

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
465                 470                 475                 480

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                485                 490                 495

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            500                 505                 510

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        515                 520                 525

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    530                 535                 540
```

```
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                565                 570                 575

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            580                 585                 590

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    610                 615                 620

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
625                 630                 635                 640

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            660                 665                 670

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        675                 680                 685
```

<210> 111
<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 111

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly His Ile Arg Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60
```

```
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
        355                 360                 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 112
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 112

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 113
<211> 689

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 113

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Thr Ile Arg Gln Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
```

```
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
225                 230                 235                 240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                245                 250                 255

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
            260                 265                 270

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
        275                 280                 285

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    290                 295                 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305                 310                 315                 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
                325                 330                 335

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
            340                 345                 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        355                 360                 365

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    370                 375                 380

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
385                 390                 395                 400

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
```

```
                405                 410                 415

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            420                 425                 430

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        435                 440                 445

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    450                 455                 460

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
465                 470                 475                 480

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                485                 490                 495

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            500                 505                 510

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        515                 520                 525

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    530                 535                 540

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
545                 550                 555                 560

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
                565                 570                 575

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            580                 585                 590

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
        595                 600                 605

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    610                 615                 620

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
625                 630                 635                 640

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                645                 650                 655
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            660                 665                 670

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        675                 680                 685

Lys
```

<210> 114
<211> 450

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 114

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
            20                  25                  30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Thr Ile Arg Gln Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
```

```
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450
```

<210> 115
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 115

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Val Leu Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 116
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 116

```
Ser Tyr Ala Met Ser
1               5
```

<210> 117
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 117

```
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 118

```
Val Leu Gly Trp Phe Asp Tyr
1               5
```

<210> 119
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 119

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 120
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 120

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala
            100                 105                 110

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
        115                 120                 125

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
    130                 135                 140

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
145                 150                 155                 160

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
            180                 185                 190

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
        195                 200                 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210
```

<210> 121
<211> 688
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 121

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            100                 105                 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
        115                 120                 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
            180                 185                 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
        195                 200                 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
225                 230                 235                 240

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
                245                 250                 255

Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
```

```
            260                 265                 270

Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
        275                 280                 285

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    290                 295                 300

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
305                 310                 315                 320

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
                325                 330                 335

Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            340                 345                 350

Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
        355                 360                 365

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
    370                 375                 380

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
385                 390                 395                 400

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
                405                 410                 415

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
            420                 425                 430

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
        435                 440                 445

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Lys Thr
    450                 455                 460

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
465                 470                 475                 480

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                485                 490                 495

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            500                 505                 510
```

```
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        515                 520                 525

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    530                 535                 540

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                565                 570                 575

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            580                 585                 590

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    610                 615                 620

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
625                 630                 635                 640

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            660                 665                 670

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        675                 680                 685
```

<210> 122
<211> 445
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 122

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            100                 105                 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
        115                 120                 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
            180                 185                 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
        195                 200                 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
    210                 215                 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225                 230                 235                 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                245                 250                 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
            260                 265                 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        275                 280                 285
```

```
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    290                 295                 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
        355                 360                 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    370                 375                 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385                 390                 395                 400

Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
                405                 410                 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            420                 425                 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 123
<211> 455
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 123

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

```
Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
    210                 215                 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225                 230                 235                 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
                245                 250                 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
            260                 265                 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        275                 280                 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    290                 295                 300
```

```
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305                 310                 315                 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                325                 330                 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
            340                 345                 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
        355                 360                 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
    370                 375                 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385                 390                 395                 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
                405                 410                 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
            420                 425                 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
        435                 440                 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    450                 455
```

<210> 124
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 124

```
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45
```

```
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115                 120                 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 125
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 125

```
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30
```

```
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 126
<211> 1425
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 126

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag       60

gtgcagctgc tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc      120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcacc tacgccatga actgggtgcg ccaggccct       180

ggcaaaggcc tggaatgggt gtcccggatc agaagcaagt acaacaacta cgccacctac      240

tacgccgaca gcgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acgacagcaa gaacaccctg      300

tacctgcaga tgaacagcct gcgggccgag gacaccgccg tgtactattg tgtgcggcac      360

ggcaacttcg gcaacagcta tgtgtcttgg tttgcctact ggggccaggg caccctcgtg      420

accgtgtcat ctgctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag      480

agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg      540

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc      600

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg      660

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag      720

aaagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa      780

ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc      840

tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc      900
```

aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 960

gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1020

ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1080

aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140

tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1200

cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac 1320

aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380

aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 1425

<210> 127
<211> 705
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 127

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattctcag 60

gccgtcgtga cccaggaacc cagcctgaca gtgtctcctg gcggcaccgt gaccctgaca 120

tgtggcagtt ctacaggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggaaaag 180

cccggccagg ccttcagagg actgatcggc ggcaccaaca agagagcccc tggcaccccc 240

gccagattca gcggatctct gctgggagga aaggccgccc tgacactgtc tggcgcccag 300

ccagaagatg aggccgagta ctactgcgcc ctgtggtaca gcaacctgtg ggtgttcggc 360

ggaggcacca agctgacagt cctaggtcaa cccaaggctg cccccagcgt gaccctgttc 420

ccccccagca gcgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tggtctgcct gatcagcgac 480

ttctacccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 540

gtggagacca ccaccccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 600

agcctgaccc ccgagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccaggt gacccacgag 660

ggcagcaccg tggagaaaac cgtggccccc accgagtgca gctga 705

<210> 128
<211> 432
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 128

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60

gtgcagctgc tggaatctgg cggcggactg gtgcagcctg gcggatctct gagactgagc 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcacc tacgccatga actgggtgcg ccaggccct 180

ggcaaaggcc tggaatgggt gtcccggatc agaagcaagt acaacaacta cgccacctac 240

tacgccgaca gcgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acgacagcaa gaacaccctg 300

tacctgcaga tgaacagcct gcgggccgag gacaccgccg tgtactattg tgtgcggcac 360

ggcaacttcg gcaacagcta tgtgtcttgg tttgcctact ggggccaggg caccctcgtg 420

accgtgtcat ct 432

<210> 129
<211> 15
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 129

acctacgcca tgaac 15

<210> 130
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 130

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggc 57

<210> 131
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 131

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct ac 42

<210> 132
<211> 384
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 132

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattctcag 60

gccgtcgtga cccaggaacc cagcctgaca gtgtctcctg gcggcaccgt gaccctgaca 120

tgtggcagtt ctacaggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggaaaag 180

cccggccagg ccttcagagg actgatcggc ggcaccaaca agagagcccc tggcaccctt 240

gccagattca gcggatctct gctgggagga aaggccgccc tgacactgtc tggcgcccag 300

ccagaagatg aggccgagta ctactgcgcc ctgtggtaca gcaacctgtg ggtgttcggc 360

ggaggcacca agctgacagt ccta 384

<210> 133
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 133

ggcagttcta caggcgccgt gaccaccagc aactacgcca ac 42

<210> 134
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 134

ggcaccaaca agagagcccc t 21

<210> 135
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 135

gccctgtggt acagcaacct gtgggtg 27

<210> 136
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 136

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 137

<400> 137

000

<210> 138

<400> 138

000

<210> 139

<400> 139

000

<210> 140

<400> 140

000

<210> 141

<400> 141

000

<210> 142

<400> 142

000

<210> 143

<400> 143

000

<210> 144

<400> 144

000

<210> 145

<400> 145

000

<210> 146

<400> 146

000

<210> 147

<400> 147

000

<210> 148

<400> 148

000

<210> 149

<400> 149

000

<210> 150

<400> 150

000

<210> 151
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 151

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacgctggtg ttactccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 152
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 152

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacatcggtg ttgttacttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 153
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 153

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacactggtg gttcttctgc tttcgactat tggggtcaag gcaccctcgt aacggtttct 360

tct 363

<210> 154
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<220>
<221> base_modificada

<222> (47) . . (47)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 154

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgnttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgaa 300

tggcgtcgtt acacttcttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 155
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 155

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtggt 300

tggatccgtt gggaacattt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 156
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 156

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacctgttct ctacttcttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 157
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 157

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgag gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacatcggta tcgttccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 158
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 158

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 159
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<220>
<221> base_modificada

<222> (53) . . (53)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 159

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc ccngcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaacc gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttactt cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 160
<211> 360
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 160

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

tacgttggtg tttctccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 161
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<220>
<221> base_modificada

<222> (47) . . (47)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<220>
<221> base_modificada

<222> (177) . . (177)
<223> a, c, t, g, desconocida u otra

<400> 161

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgnttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcntac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaacttc 300

actgttctgc gtgttccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 162
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 162

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat gggcttggtt cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 163
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 163

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaacc gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccttgggaat gggcttactt cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 164
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 164

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcactggt 300

tggtctcgtt ggggttacat ggactattgg ggccaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 165
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 165

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60
agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180
gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgaa 300
tggatccgtt actaccattt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 166
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 166

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60
agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180
gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcgttggt 300
tggtaccgtt ggggttacat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

<210> 167
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 167

caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag ggtaaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagagctgtt 300
ttctaccgtg cttggtactc tttcgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360
tca 363

<210> 168
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 168

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60

atcacttgcc gtgccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

cgtttcagcg gcagtggatc cgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataccagcc caccaccaac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 169
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 169

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc 300

ttcactggtt tccatctgga ctattggggt caaggcaccc tcgtaacggt ttcttct 357

<210> 170
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 170

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatacca acgaacatta ttatacgttc 300

ggccagggga ccaaagtgga aatcaaa 327

<210> 171
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 171

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc t 351

<210> 172
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 172

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac 300

cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaa 336

<210> 173
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 173

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgagc 300

cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaa 336

<210> 174
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 174

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgcag 300

cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaa 336

<210> 175
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 175

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac 300

cgggcttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaa 336

<210> 176
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 176

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac 300

cggaattttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaa 336

<210> 177
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 177

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctcttac 300

atcgacatgg actattgggg tcaaggcacc ctcgtaacgg tttcttct 348

<210> 178
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 178

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggataact ggagcccaac gttcggccag 300

gggaccaaag tggaaatcaa a 321

<210> 179
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 179

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctcttac 300

gttgacatgg actattgggg tcaaggcacc ctcgtaacgg tttcttct 348

<210> 180
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 180

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctacc tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggatattt ggagcccaac gttcggccag 300

gggaccaaag tggaaatcaa a 321

<210> 181
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 181

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagactct 300

tcttacgttg aatggtacgc tttcgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 360

agt 363

<210> 182
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 182

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gactccactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagccaacca gcagcccaat tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 183

<211> 684
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 183

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180
tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt caagcgctag taccaagggc cccagcgtgt tccccctggc acccagcagc 420

aagagcacat ctggcggaac agccgctctg ggctgtctgg tgaaagacta cttccccgag 480

cccgtgaccg tgtcttggaa ctctggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac ctttccagcc 540

gtgctgcaga gcagcggcct gtactccctg tcctccgtgg tcaccgtgcc ctctagctcc 600

ctgggaacac agacatatat ctgtaatgtc aatcacaagc cttccaacac caaagtcgat 660

aagaaagtcg agcccaagag ctgc 684

<210> 184
<211> 696
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 184

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt caagcgctag tgtggccgct ccctccgtgt ttatctttcc cccatccgat 420

gaacagctga aaagcggcac cgcctccgtc gtgtgtctgc tgaacaattt ttaccctagg 480

gaagctaaag tgcagtggaa agtggataac gcactgcagt ccggcaactc ccaggaatct 540

gtgacagaac aggactccaa ggacagcacc tactccctgt cctccaccct gacactgtct 600

aaggctgatt atgagaaaca caaagtctac gcctgcgaag tcacccatca gggcctgagc 660

tcgcccgtca caaagagctt caacagggga gagtgt 696

<210> 185
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 185

gcaggcaagc attatgcagc ggacttttgg tcaagg 36

<210> 186
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 186

caggcaagca ttatgagccg gacttttggt caagg 35

<210> 187
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 187

cattatgaac cgggcttttg gtcaaggcac caaggtc 37

<210> 188
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: cebador sintético"

<400> 188

cattatgaac cgggcttttg gtcaaggcac caaggtc 37

<210> 189
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 189

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

```
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg      180
gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact      240
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc      300
ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc      360
gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc      420
ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagccgct gacagtgtct      480
tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc      540
ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc      600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc      660
aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa      720
tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc      780
ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa      840
tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg      900
aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac      960
agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac     1020
agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct     1080
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga     1140
acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agccgtgac cgtgtcttgg      1200
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc     1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat     1320
atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag     1380
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg     1440
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag     1500
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac     1560
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc     1620
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     1680
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgcccca tcgagaaaac catctccaaa     1740
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg     1800
accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1860
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1920
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1980
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     2040
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa                                        2067
```

<210> 190
<211> 1350
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 190

```
gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg       60
agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc      120
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg      180
gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact      240
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc      300
ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc      360
gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc      420
ggcacagccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc      480
tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct      540
ggcctgtata gcctgagcag cgtggtcacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc      600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc      660
aagagctgcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga      720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct      780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg      840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac      900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag      960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc     1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgcccccatc ccgggatgag     1080
ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc     1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg     1200
ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg     1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg     1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                      1350
```

<210> 191
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 191

caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtcctaggt caacccaagg ctgccccag cgtgaccctg 360

ttcccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatcagc 420

gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480

ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540

ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgacccac 600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagc 645

<210> 192
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 192

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt catctgctag cacaaagggc cctagcgtgt tccctctggc ccccagcagc 420

aagagcacaa gcggcggaac agccgccctg ggctgcctcg tgaaggacta cttccccgag 480

cccgtgacag tgtcttggaa cagcggagcc ctgacaagcg gcgtgcacac cttccctgcc 540

gtgctgcaga gcagcggcct gtactccctg agcagcgtgg tcaccgtgcc tagcagcagc 600

ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aaccacaagc ccagcaacac caaagtggac 660

aagaaggtgg agcccaagag ctgtgatggc ggaggagggt ccggaggcgg aggatccgag 720

gtgcaattgg ttgaatctgg tggtggtctg gtaaaaccgg gcggttccct gcgtctgagc 780

tgcgcggctt ccggattcac cttctccaac gcgtggatga gctgggttcg ccaggccccg 840

ggcaaaggcc tcgagtgggt tggtcgtatc aagtctaaaa ctgacggtgg caccacggat 900

tacgcggctc cagttaaagg tcgttttacc atttcccgcg acgatagcaa aaacactctg 960

tatctgcaga tgaactctct gaaaactgaa gacaccgcag tctactactg tactaccccg 1020

tgggaatggt cttggtacga ttattggggc cagggcacgc tggttacggt gtctagcgct 1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga 1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg 1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc 1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat 1320

atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag 1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggggaccg 1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 1500

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1740

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg 1800

accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1920

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 2067

<210> 193
<211> 1365
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 193

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt catctgctag caccaagggc ccatcggtct tccccctggc accctcctcc 420

aagagcacct ctgggggcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 480

ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540

gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600

ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660

aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720

gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc ttccccccaa aacccaagga caccctcatg 780

atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960

tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc 1020

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1080

ccatgccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc 1140

tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaa 1365

<210> 194
<211> 681
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 194

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 540

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accgcttcac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctccgggtaa a 681

<210> 195
<211> 2070
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 195

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca 360

aagggcccca gcgtgttccc tctggccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct 480

ggcgccctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt 660

gatggcggag gagggtccgg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc 720

ggactggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc 780

agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gcccctggca aaggcctgga atgggtgtcc 840

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg 900

ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg 960

gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcaa cagctatgtg 1020

tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctcgtgaccg tgtcaagcgc tagtgtggcc 1080

gctccctccg tgtttatctt tcccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc 1140

gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct agggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat 1200

aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc 1260

acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc 1320

tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg 1380

ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc 1440

ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc 1500

gaagtgacct gcgtggtggt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtgaa gttcaattgg 1560

tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 1620

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1680

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc 1740

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccccatg ccgggatgag 1800

ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1860

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1920

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1980

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 2040

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 2070

<210> 196
<211> 1341
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 196

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 197
<211> 657
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 197

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac 300

cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cggtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 198
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 198

caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgcttcca ccaaaggccc ttccgtgttt 360

cctctggctc ctagctccaa gtccacctct ggaggcaccg ctgctctcgg atgcctcgtg 420

aaggattatt ttcctgagcc tgtgacagtg tcctggaata gcggagcact gacctctgga 480

gtgcatactt tccccgctgt gctgcagtcc tctggactgt acagcctgag cagcgtggtg 540

acagtgccca gcagcagcct gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc 600

agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa cccaagtctt gt 642

<210> 199
<211> 1377
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 199

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt catctgctag cgtggccgct ccctccgtgt ttatctttcc cccatccgat 420

gaacagctga aaagcggcac cgcctccgtc gtgtgtctgc tgaacaattt ttaccctagg 480

gaagctaaag tgcagtggaa agtggataac gcactgcagt ccggcaactc ccaggaatct 540

gtgacagaac aggactccaa ggacagcacc tactccctgt cctccaccct gacactgtct 600

aaggctgatt atgagaaaca caaagtctac gcctgcgaag tcacccatca gggcctgagc 660

tcgcccgtca caaagagctt caacagggga gagtgtgaca agacccacac ctgtcccccc 720

tgtcctgccc ctgaagctgc tggcggccct tctgtgttcc tgttcccccc aaagcccaag 780

gacaccctga tgatcagccg gacccccgaa gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtcccac 840

gaggaccctg aagtgaagtt caattggtac gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag 900

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 960

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc 1020

ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 1080

tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg 1140

gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1200

aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1260

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1320

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1377

<210> 200
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 200

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc 420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct 480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc 540

```
ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc      600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc      660
aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa      720
tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc      780
ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa      840
tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg      900
aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac      960
agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcgcc     1020
agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct     1080
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga     1140
acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg     1200
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc     1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat     1320
atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag     1380
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg     1440
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag     1500
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac     1560
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc     1620
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     1680
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgcccccа tcgagaaaac catctccaaa     1740
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg     1800
accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1860
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1920
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1980
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     2040
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa                                        2067
```

<210> 201
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 201

```
gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg      60
agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc     120
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg     180
gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact     240
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc     300
ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc     360
gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc     420
ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct     480
tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc     540
ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc     600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc     660
aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa     720
tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc     780
ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa     840
tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg     900
aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac     960
agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac    1020
gcctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct    1080
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga    1140
acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg    1200
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc    1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat    1320
atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag    1380
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg    1440
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag    1500
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac    1560
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc    1620
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag    1680
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa    1740
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg    1800
accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc    1860
```

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1920

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 2067

<210> 202
<211> 1323
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 202

caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc 360

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 420

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 480

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 540

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 600

agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc 660

ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa 720

cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 780

agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat 840

gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 900

accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 960

gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1020

caggtgtaca ccctgccccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc 1080

tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1140

ccggagaaca actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1200

tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 1260

gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt 1320

aaa 1323

<210> 203
<211> 681
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 203

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

gctagcgtgg ccgctccctc cgtgttcatc ttcccacctt ccgacgagca gctgaagtcc 420

ggcaccgctt ctgtcgtgtg cctgctgaac aacttctacc cccgcgaggc caaggtgcag 480

tggaaggtgg acaacgccct gcagtccggc aacagccagg aatccgtgac cgagcaggac 540

tccaaggaca gcacctactc cctgtcctcc accctgaccc tgtccaaggc cgactacgag 600

aagcacaagg tgtacgcctg cgaagtgacc caccagggcc tgtctagccc cgtgaccaag 660

tctttcaacc ggggcgagtg c 681

<210> 204
<211> 693
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 204

gaagtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc acctacgcca tgaactgggt gcgacaggct 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtgtcccgg atcagatcca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg actccgtgaa gggccggttc accatctctc gggacgactc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaactc ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360
gtgaccgtgt catctgctag ccccaaggct gcccccagcg tgaccctgtt tcccccccagc 420

agcgaggaac tgcaggccaa caaggccacc ctggtctgcc tgatcagcga cttctaccca 480

ggcgccgtga ccgtggcctg gaaggccgac agcagccccg tgaaggccgg cgtggagacc 540

accaccccca gcaagcagag caacaacaag tacgccgcca gcagctacct gagcctgacc 600

cccgagcagt ggaagagcca caggtcctac agctgccagg tgacccacga gggcagcacc 660

gtggagaaaa ccgtggcccc caccgagtgc agc 693

<210> 205
<211> 327
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 205

cagaccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcagcag 120

aagccaggcc aggctcccag aggactgatc ggcggcacca acgccagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgtg 240

cagcctgaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtccta 327

<210> 206
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 206

cagaccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcagcag 120

aagccaggcc aggctcccag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgtg 240

cagcctgaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acgccaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtccta 327

<210> 207
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 207

gaggtgcaat tggtggaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgcactgggt gcgccaggcc 120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccggttc accatcagca gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc 300

ccctgggagt ggtcttggta cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360

gctagc 366

<210> 208
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 208

gaggtgcaat tggtggaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc 120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgtcccgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccggttc accatcagca gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc 300

ccctgggagt ggtcttggta cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360

gctagc 366

<210> 209
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 209

gaggtgcaat tggtggaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc 120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgggatct atcaagagca agaccgacgg cggcaccacc 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccggttc accatcagca gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc 300

ccctgggagt ggtcttggta cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360

gctagc 366

<210> 210
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 210

gaggtgcaat tggtggaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc 120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccggttc accatcagca gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc 300

ccctacgagt ggtcttggta cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct 360

gctagc 366

<210> 211
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 211

gaggtgcaat tggtggaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc 120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccggttc accatcagca gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc 300

ccctgggagt actcttggta cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct 360

gctagc 366

<210> 212
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 212

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

actatcgttg tttctccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

gctagc 366

<210> 213
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 213

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac 300

ttcatcggtt ctgttgctat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

gctagc 366

<210> 214
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 214

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtctg 300

acttactcta tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagc 357

<210> 215
<211> 342
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 215

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcact gcagattcca 300

aacacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cg 342

<210> 216

<211> 354
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 216

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatacgct 300

tacgctctgg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagc 354

<210> 217
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 217

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagcatggca gcagcagcac gttcggccag 300

gggaccaaag tggaaatcaa acgtacg 327

<210> 218
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 218

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttctctgctg gtcgtctgat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct 360

gctagc 366

<210> 219
<211> 345
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 219

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60
atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcact gcagacccca 300

ccaattacct ttggtcaagg caccaaggtc gaaattaaac gtacg 345

<210> 220
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 220

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

tacaacgctt tcgactattg gggtcacggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagc 357

<210> 221
<211> 339
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 221

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcatg gcatagccca 300

acttttggtc aaggcaccaa ggtcgaaatt aaacgtacg 339

<210> 222
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 222

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgct 300

acttacacta tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagc 357

<210> 223
<211> 342
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 223

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcact gcagacccca 300

attacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cg 342

<210> 224
<211> 1344
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 224

caggtgcagc tgcagcagtc tggcgccgag ctcgtgaaac ctggcgcctc cgtgaagatc 60

agctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacttca tgaactgggt caagcagagc 120

cacggcaaga gcctggaatg gatcggcaga atccaccccct acgacggcga caccttctac 180

aaccagaact tcaaggacaa ggccaccctg accgtggaca agagcagcaa caccgcccac 240

atggaactgc tgagcctgac cagcgaggac ttcgccgtgt actactgcac cagatacgac 300

ggcagccggg ccatggatta ttggggccag ggcaccaccg tgacagtgtc cagcgctagc 360

accaagggcc cctccgtgtt ccccctggcc cccagcagca agagcaccag cggcggcaca 420

gccgctctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcctggaac 480

agcggagccc tgacctccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag ttctggcctg 540

tatagcctga gcagcgtggt caccgtgcct tctagcagcc tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaggtgga gcccaagagc 660

tgcgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagctgcagg gggaccgtca 720

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 900

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960

aagtgcaagg tctccaacaa agccctcggc gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtgc accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1080

aagaaccagg tcagcctctc gtgcgcagtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200

tccgacggct ccttcttcct cgtgagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320

agcctctccc tgtctccggg taaa 1344

<210> 225
<211> 2073
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 225

caggtgcagc tgcagcagtc tggcgccgag ctcgtgaaac ctggcgcctc cgtgaagatc 60

agctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacttca tgaactgggt caagcagagc 120

cacggcaaga gcctggaatg gatcggcaga atccaccgct acgacggcga caccttctac 180

aaccagaact tcaaggacaa ggccaccctg accgtggaca agagcagcaa caccgcccac 240

atggaactgc tgagcctgac cagcgaggac ttcgccgtgt actactgcac cagatacgac 300

ggcagccggg ccatggatta ttggggccag ggcaccaccg tgacagtgtc cagcgctagc 360

acaaagggcc ccagcgtgtt ccctctggcc cctagcagca agagcacatc tggcggaaca 420

gccgccctgg gctgcctcgt gaaggactac tttcccgagc ctgtgaccgt gtcctggaac 480

tctggcgccc tgacaagcgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagag cagcggcctg 540

tactctctga gcagcgtggt caccgtgcct agcagcagcc tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaagtggaca agaaggtgga gcccaagagc 660

tgtgatggcg gaggagggtc cggaggcgga ggatccgaag tgcagctggt ggaaagcggc 720

ggaggcctgg tgcagcctaa gggctctctg aagctgagct gtgccgccag cggcttcacc 780

ttcaacacct acgccatgaa ctgggtgcgc caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg 840

gcccggatca gaagcaagta caacaattac gccacctact acgccgacag cgtgaaggac 900

cggttcacca tcagccggga cgacagccag agcatcctgt acctgcagat gaacaacctg 960

aaaaccgagg acaccgccat gtactactgc gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat 1020

gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc accctcgtga cagtgtctgc tgctagcgtg 1080

gccgctccct ccgtgtttat ctttccccca tccgatgaac agctgaaaag cggcaccgcc 1140

tccgtcgtgt gtctgctgaa caatttttac cctagggaag ctaaagtgca gtggaaagtg 1200

gataacgcac tgcagtccgg caactcccag gaatctgtga cagaacagga ctccaaggac 1260

agcacctact ccctgtcctc caccctgaca ctgtctaagg ctgattatga gaaacacaaa 1320

gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac 1380

aggggagagt gtgacaagac ccacacctgt ccccccttgtc ctgcccctga agctgctggc 1440

ggcccttctg tgttcctgtt ccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 1500

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 1560

tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaac gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 1620

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1680

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 1740

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgccgggat 1800

gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1860

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1920

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1980

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2040

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa 2073

<210> 226
<211> 654
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 226

```
gacatcgagc tgacccagag ccctgcctct ctggccgtgt ctctgggaca gagagccatc        60

atcagctgca aggccagcca gagcgtgtcc tttgccggca cctctctgat gcactggtat       120

caccagaagc ccggccagca gcccaagctg ctgatctaca gagccagcaa cctggaagcc       180

ggcgtgccca caagattttc cggcagcggc agcaagaccg acttcaccct gaacatccac       240

cccgtggaag aagaggacgc cgccacctac tactgccagc agagcagaga gtaccctac        300

accttcggcg gaggcaccaa gctggaaatc aagcgtacgg tggctgcacc atctgtcttc       360

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg       420

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg       480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc       540

agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc       600

acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt              654
```

<210> 227
<211> 209
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 227

```
Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala
1               5                  10                  15

Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln
            20                  25                  30

Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln
        35                  40                  45

Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His
    50                  55                  60

Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr
65                  70                  75                  80

Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val
                85                  90                  95

Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys
            100                 105                 110
```

```
Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys
        115                 120                 125

Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys
    130                 135                 140

Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr
145                 150                 155                 160

Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser
                165                 170                 175

Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro
            180                 185                 190

Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala
        195                 200                 205

Met
```

<210> 228
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 228

```
Thr Met Cys Ser Ala Gln Asp Arg Thr Asp Leu Leu Asn Val Cys Met
1               5                   10                  15

Asp Ala Lys His His Lys Thr Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His
            20                  25                  30

Asp Gln Cys Ser Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Thr Ala Ser Thr
        35                  40                  45

Ser Gln Glu Leu His Lys Asp Thr Ser Arg Leu Tyr Asn Phe Asn Trp
    50                  55                  60

Asp His Cys Gly Lys Met Glu Pro Ala Cys Lys Arg His Phe Ile Gln
65                  70                  75                  80

Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln
                85                  90                  95

Gln Val Asn Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Phe Leu Asp Val Pro Leu
            100                 105                 110

Cys Lys Glu Asp Cys Gln Arg Trp Trp Glu Asp Cys His Thr Ser His
```

```
        115                 120                 125

Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Arg Gly Trp Asp Trp Thr Ser Gly Val
    130                 135                 140

Asn Lys Cys Pro Ala Gly Ala Leu Cys Arg Thr Phe Glu Ser Tyr Phe
145                 150                 155                 160

Pro Thr Pro Ala Ala Leu Cys Glu Gly Leu Trp Ser His Ser Tyr Lys
                165                 170                 175

Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe
            180                 185                 190

Asp Ser Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala
        195                 200                 205

Ala Ala Met His Val Asn
    210
```

<210> 229
<211> 220
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 229

```
Ser Ala Arg Ala Arg Thr Asp Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys
1               5                   10                  15

His His Lys Thr Gln Pro Ser Pro Glu Asp Glu Leu Tyr Gly Gln Cys
            20                  25                  30

Ser Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Thr Ala Ser Thr Ser Gln Glu
        35                  40                  45

Leu His Lys Asp Thr Ser Arg Leu Tyr Asn Phe Asn Trp Asp His Cys
    50                  55                  60

Gly Lys Met Glu Pro Thr Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Ser Cys
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Arg Gln Val Asn
                85                  90                  95

Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu
            100                 105                 110

Asp Cys Glu Arg Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys
        115                 120                 125
```

```
Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly Ile Asn Glu Cys
    130                 135                 140

Pro Ala Gly Ala Leu Cys Ser Thr Phe Glu Ser Tyr Phe Pro Thr Pro
145                 150                 155                 160

Ala Ala Leu Cys Glu Gly Leu Trp Ser His Ser Phe Lys Val Ser Asn
                165                 170                 175

Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Ser Ala
            180                 185                 190

Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Lys Phe Tyr Ala Ala Ala Met
        195                 200                 205

Asn Ala Gly Ala Pro Ser Arg Gly Ile Ile Asp Ser
    210                 215                 220
```

<210> 230
<211> 208
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 230

```
Thr Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asp Ala Lys His
1               5                   10                  15

His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Asn Leu His Asp Gln Cys Ser
            20                  25                  30

Pro Trp Lys Thr Asn Ser Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala
        35                  40                  45

His Lys Asp Ile Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly
    50                  55                  60

Thr Met Thr Ser Glu Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu
65                  70                  75                  80

Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln
                85                  90                  95

Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu Asp Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp
            100                 105                 110

Cys Gln Gln Trp Trp Glu Asp Cys Gln Ser Ser Phe Thr Cys Lys Ser
        115                 120                 125
```

```
Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Ser Ser Gly His Asn Glu Cys Pro
    130                 135                 140

Val Gly Ala Ser Cys His Pro Phe Thr Phe Tyr Phe Pro Thr Ser Ala
145                 150                 155                 160

Ala Leu Cys Glu Glu Ile Trp Ser His Ser Tyr Lys Leu Ser Asn Tyr
                165                 170                 175

Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln
            180                 185                 190

Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala Glu Ala Met Ser
        195                 200                 205
```

<210> 231
<211> 213
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 231

```
Glu Ala Gln Thr Arg Thr Ala Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val
1               5                   10                  15

Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys
            20                  25                  30

Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Ser Thr
        35                  40                  45

Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe
    50                  55                  60

Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys Lys Arg His Phe
65                  70                  75                  80

Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp
                85                  90                  95

Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Val Leu Asn Val
            100                 105                 110

Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Arg Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr
        115                 120                 125

Ser Tyr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly
    130                 135                 140
```

```
Phe Asn Lys Cys Pro Val Gly Ala Ala Cys Gln Pro Phe His Phe Tyr
145                 150                 155                 160

Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile Trp Thr Tyr Ser Tyr
                165                 170                 175

Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp
            180                 185                 190

Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr
        195                 200                 205

Ala Ala Ala Met Ser
    210
```

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<400> 233

000

<210> 234

<400> 234

000

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<400> 236

000

<210> 237

<400> 237

000

<210> 238

<400> 238

000

<210> 239

<400> 239

000

<210> 240

<400> 240

000

<210> 241

<400> 241

000

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<400> 243

000

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246
<211> 2076
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 246

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc 300

ttcactggtt tccatctgga ctattggggt caaggcaccc tcgtaacggt ttcttctgct 360

agcacaaagg gccccagcgt gttccctctg gcccctagca gcaagagcac atctggcgga 420

acagccgccc tgggctgcct cgtgaaggac tactttcccg agcctgtgac cgtgtcctgg 480

aactctggcg ccctgacaag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc 540

ctgtactctc tgagcagcgt ggtcaccgtg cctagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaagtgg acaagaaggt ggagcccaag 660

agctgtgatg gcggaggagg gtccggaggc ggaggatccg aggtgcagct gctggaatct 720

ggcggcggac tggtgcagcc tggcggatct ctgagactga gctgtgccgc cagcggcttc 780

accttcagca cctacgccat gaactgggtg cgccaggccc ctggcaaagg cctggaatgg 840

gtgtcccgga tcagaagcaa gtacaacaac tacgccacct actacgccga cagcgtgaag 900

ggccggttca ccatcagccg ggacgacagc aagaacaccc tgtacctgca gatgaacagc 960

ctgcgggccg aggacaccgc cgtgtactat tgtgtgcggc acggcaactt cggcaacagc 1020

tatgtgtctt ggtttgccta ctggggccag ggcaccctcg tgaccgtgtc aagcgctagt 1080

gtggccgctc cctccgtgtt tatctttccc ccatccgatg aacagctgaa aagcggcacc 1140

gcctccgtcg tgtgtctgct gaacaatttt taccctaggg aagctaaagt gcagtggaaa 1200

gtggataacg cactgcagtc cggcaactcc caggaatctg tgacagaaca ggactccaag 1260

gacagcacct actccctgtc ctccaccctg acactgtcta aggctgatta tgagaaacac 1320

aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc 1380

aacaggggag agtgtgacaa gacccacacc tgtccccctt gtcctgcccc tgaagctgct 1440

ggcggccctt ctgtgttcct gttcccccca aagcccaagg acaccctgat gatcagccgg 1500

acccccgaag tgacctgcgt ggtggtggat gtgtcccacg aggaccctga agtgaagttc 1560

aattggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aacgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1620

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1680

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcg gcgcccccat cgagaaaacc 1740

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg 1800

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggtgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1860

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1920

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1980

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 2040

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 2076

<210> 247
<211> 1347
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 247

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc 300

ttcactggtt tccatctgga ctattggggt caaggcaccc tcgtaacggt ttcttctgct 360

agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gcccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420

acagccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagttctggc 540

ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcaccgtg ccttctagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaggt ggagcccaag 660

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080

accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 248

<400> 248

000

<210> 249

<400> 249

000

<210> 250

<400> 250

000

<210> 251

<400> 251

000

<210> 252

<400> 252

000

<210> 253

<400> 253

000

<210> 254

<400> 254

000

<210> 255

<400> 255

000

<210> 256

<400> 256

000

<210> 257

<400> 257

000

<210> 258

<400> 258

000

<210> 259

<400> 259

000

<210> 260

<400> 260

000

<210> 261
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 261

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgaggg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 262
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 262

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactcaggg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

<210> 263
<211> 375
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 263

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcgccag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt caagc 375

<210> 264
<211> 375
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 264

gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg acagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaacgc ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360

gtgaccgtgt caagc 375

<210> 265
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 265

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc 420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct 480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc 660

aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa 720

tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc 780

ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa 840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg 900

aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac 960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcgcc 1020

agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct 1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga 1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg 1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc 1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat 1320

atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag 1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg 1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 1500

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1740

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg 1800

accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1920

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 2067

<210> 266
<211> 1350
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 266

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc 420

ggcacagccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc 480

tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct 540

ggcctgtata gcctgagcag cgtggtcacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc 660

aagagctgcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgcccccatc ccgggatgag 1080

ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 267
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 267

caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtcctaggt caacccaagg ctgccccccag cgtgaccctg 360

ttcccccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatcagc 420

gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480

ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540

ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgacccac 600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagc 645

<210> 268
<211> 2067
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 268

gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300

ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360

gctagcacaa agggccctag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc 420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct 480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc 660

aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa 720

```
tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc      780
ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa      840
tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg      900
aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac      960
agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac     1020
gcctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct     1080
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga     1140
acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg     1200
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc     1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat     1320
atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag     1380
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg     1440
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag     1500
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac     1560
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc     1620
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     1680
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa     1740
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg     1800
accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1860
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1920
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1980
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     2040
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa                                        2067
```

<210> 269
<211> 2070
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 269

```
caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg      60
agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc     120
```

```
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac      180
gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat      240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac      300
ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca      360
aagggcccca gcgtgttccc tctggccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc      420
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct      480
ggcgccctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac      540
tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc      600
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt      660
gatggcggag gagggtccgg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc      720
ggactggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc      780
agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gcccctggca aaggcctgga atgggtgtcc      840
cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg      900
ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg      960
gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcgc cagctatgtg     1020
tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctcgtgaccg tgtcaagcgc tagtgtggcc     1080
gctccctccg tgtttatctt tcccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc     1140
gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct agggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat     1200
aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc     1260
acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc     1320
tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg     1380
ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc     1440
ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggacccccc     1500
gaagtgacct gcgtggtggt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtgaa gttcaattgg     1560
tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac     1620
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag     1680
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc     1740
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag     1800
ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc     1860
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg     1920
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg     1980
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg     2040
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                      2070
```

<210> 270
<211> 1341
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 270

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 271
<211> 657
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 271

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc 60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg 120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct 180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcgtt tattactgta tgcaggcaag cattatgcag 300

cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cggtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 272
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 272

caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgcttcca ccaaaggccc ttccgtgttt 360

cctctggctc ctagctccaa gtccacctct ggaggcaccg ctgctctcgg atgcctcgtg 420

aaggattatt ttcctgagcc tgtgacagtg tcctggaata gcggagcact gacctctgga 480

gtgcatactt tccccgctgt gctgcagtcc tctggactgt acagcctgag cagcgtggtg 540

acagtgccca gcagcagcct gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc 600

agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa cccaagtctt gt 642

<210> 273
<211> 2070
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 273

caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac 300

ttcgcttggc tggactattg gggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca 360

aagggcccca gcgtgttccc tctggccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct 480

ggcgccctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt 660

gatggcggag gagggtccgg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc 720

ggactggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc 780

agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gcccctggca aaggcctgga atgggtgtcc 840

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg 900

ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg 960

gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcaa cgcctatgtg 1020

tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctcgtgaccg tgtcaagcgc tagtgtggcc 1080

gctccctccg tgtttatctt tcccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc 1140

gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct agggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat 1200

aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc 1260

acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc 1320

tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg 1380

ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc 1440

ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc 1500

gaagtgacct gcgtggtggt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtgaa gttcaattgg 1560

tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 1620

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1680

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc 1740

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag 1800

ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1860

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1920

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1980

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 2040

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 2070

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T que comprende un primer y un segundo resto de unión a antígeno, en la que el primer resto de unión a antígeno comprende una primera cadena ligera y en la que el primer resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T, en la que el antígeno activador de linfocitos T es CD3, en la que el segundo resto de unión a antígeno comprende una segunda cadena ligera y en la que el segundo resto de unión a antígeno se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana, en la que el antígeno de célula diana es el receptor 1 de folato (FolR1), en la que la secuencia de aminoácidos de la primera y la segunda cadena ligera es idéntica, en la que la primera y la segunda cadena ligera comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, en la que el primer resto de unión a antígeno es un Fab y el segundo resto de unión a antígeno es un Fab.

2. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 1, que comprende además un tercer resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno de célula diana.

3. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 1, que comprende además un dominio Fc compuesto de una primera y una segunda subunidad que se pueden asociar de manera estable.

4. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la primera y segunda cadena ligera comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

5. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 4, en la que la primera y segunda cadena ligera comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35.

6. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho resto de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un antígeno activador de linfocitos T comprende una cadena pesada que comprende las CDR de la cadena pesada de SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 39.

7. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 2, en la que el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son cada uno una molécula Fab que comprende una cadena ligera VLCL idéntica.

8. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 2 o 7, en la que el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son cada uno una molécula Fab que comprende las CDR de la cadena ligera de SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34.

9. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de la reivindicación 2 o 7, en la que el primer, segundo y tercer resto de unión a antígeno son cada uno una molécula Fab que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

10. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 7 a 9, en la que el primer y el tercer resto de unión a antígeno se fusionan cada uno en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de una de las subunidades del dominio Fc, y el segundo resto de unión a antígeno se fusiona en el extremo C de la cadena pesada de Fab al extremo N de la cadena pesada de Fab del primer resto de unión a antígeno.

11. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10, en la que el dominio Fc es un dominio Fc de IgG, específicamente un dominio Fc de IgG_1 o IgG_4.

12. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10, en la que el dominio Fc es un dominio Fc humano.

13. Un polinucleótido aislado que codifica la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

14. Un vector, en particular, un vector de expresión, que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 13.

15. Una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 13 o el vector de la reivindicación 14.

16. Un procedimiento de producción de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende las etapas de a) cultivar la célula huésped de la reivindicación 15 en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T y b) recuperar la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T.

17. Una composición farmacéutica que comprende la molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

18. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o la composición farmacéutica de la reivindicación 17 para su uso como medicamento.

19. La molécula de unión a antígeno biespecífica activadora de linfocitos T de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o la composición farmacéutica de la reivindicación 17 para su uso en el tratamiento del cáncer.

Fig. 1A

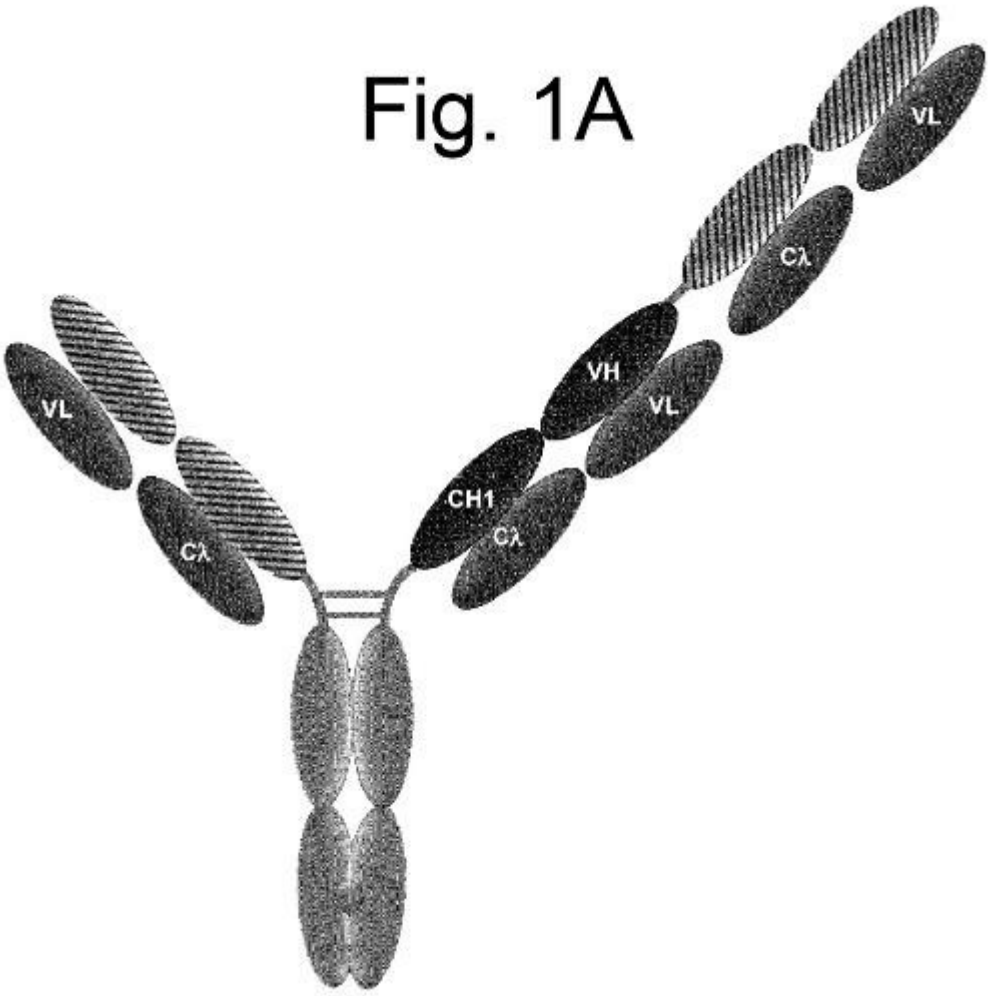


Fig. 1B

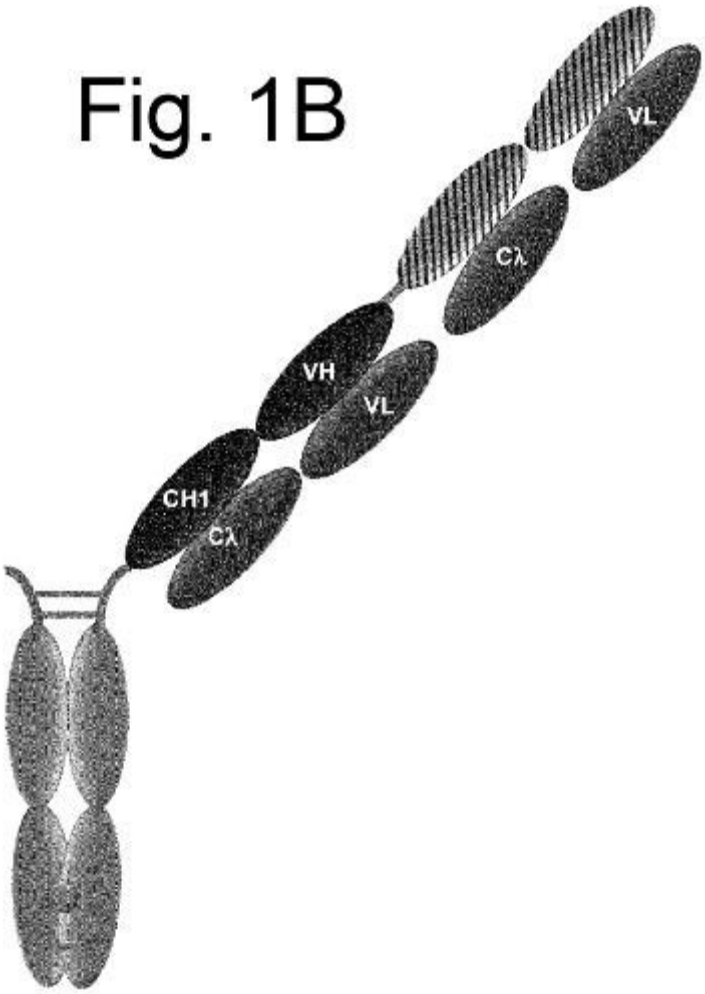


Fig. 1C

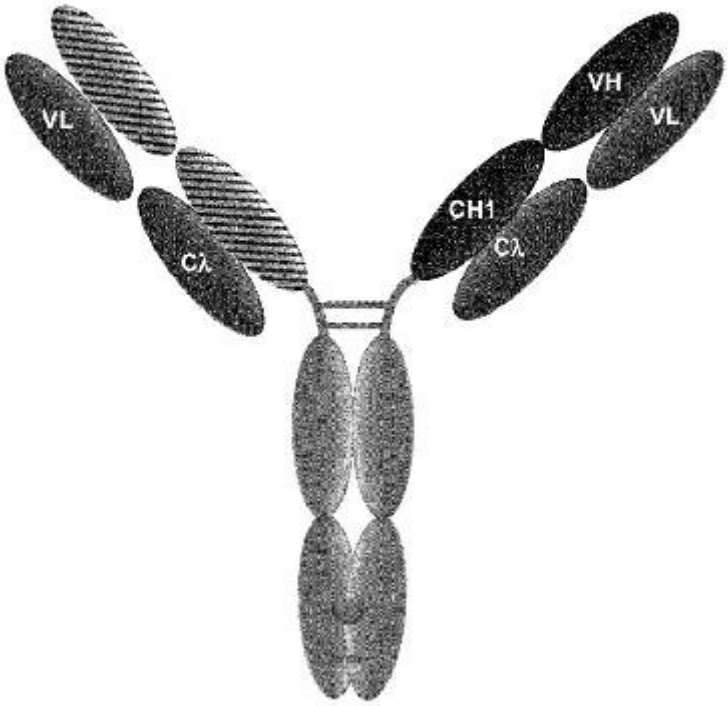


Fig. 1D

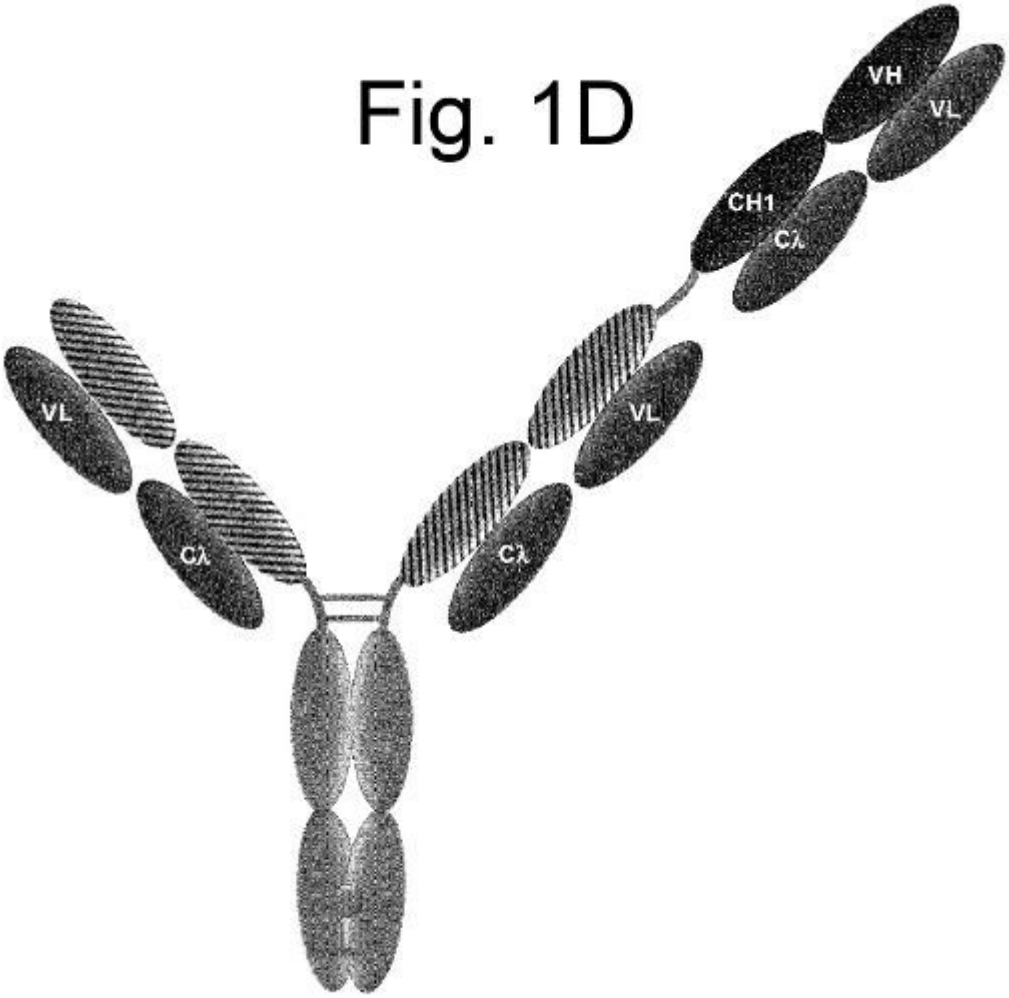


Fig. 1E

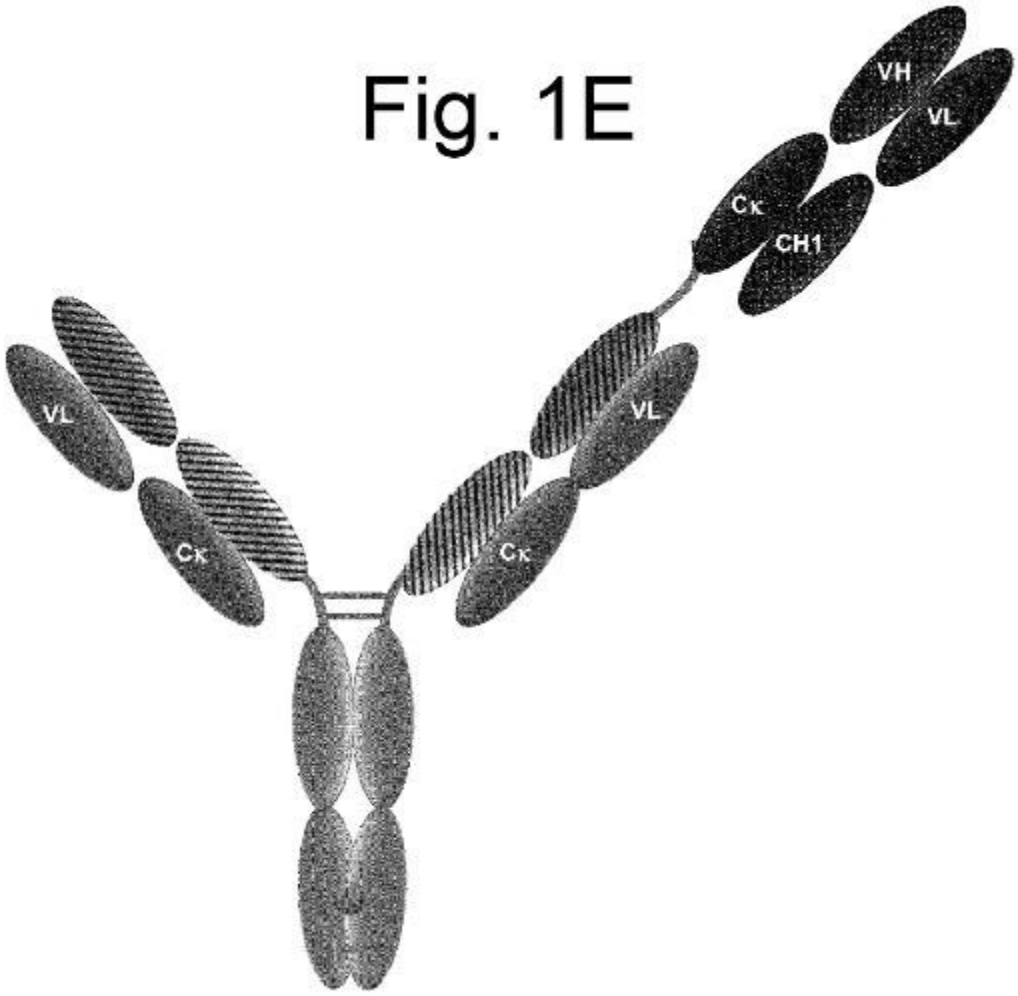


Fig. 1F

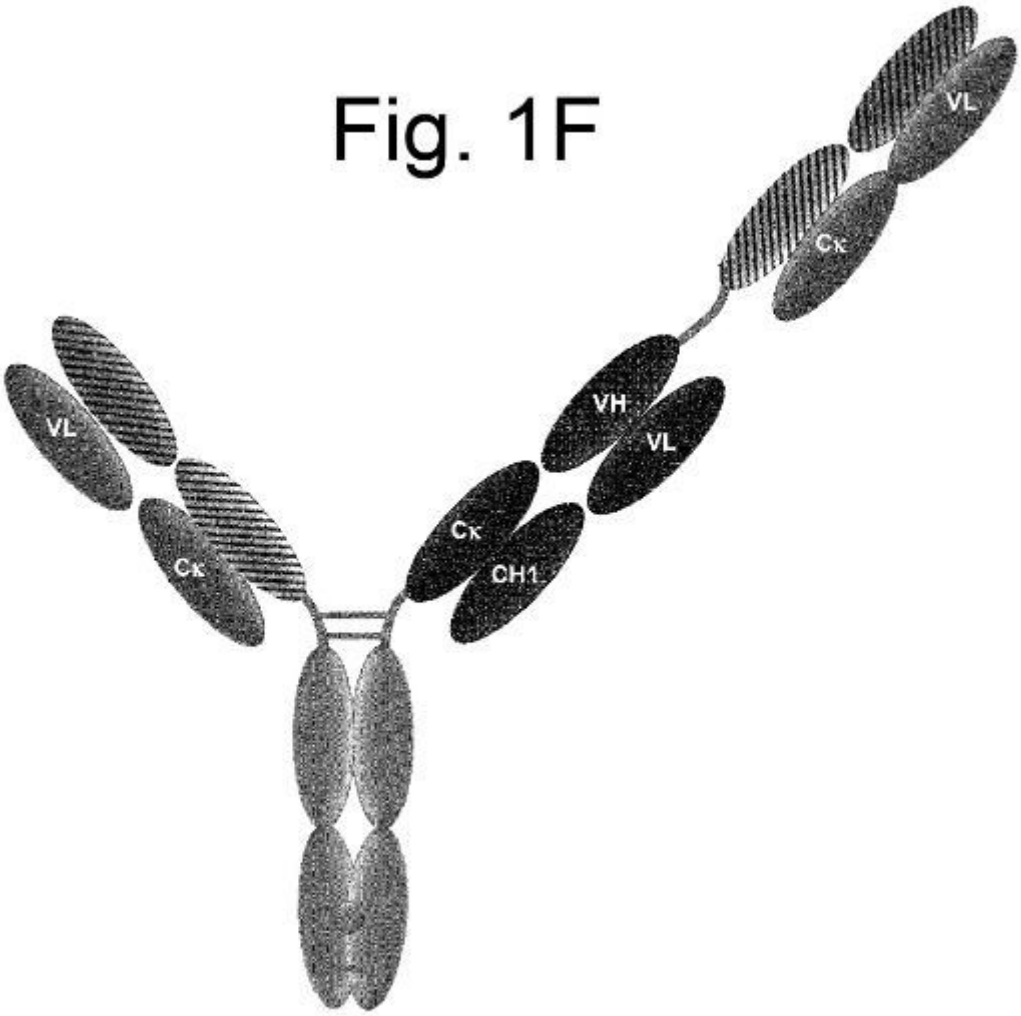


Fig. 1G

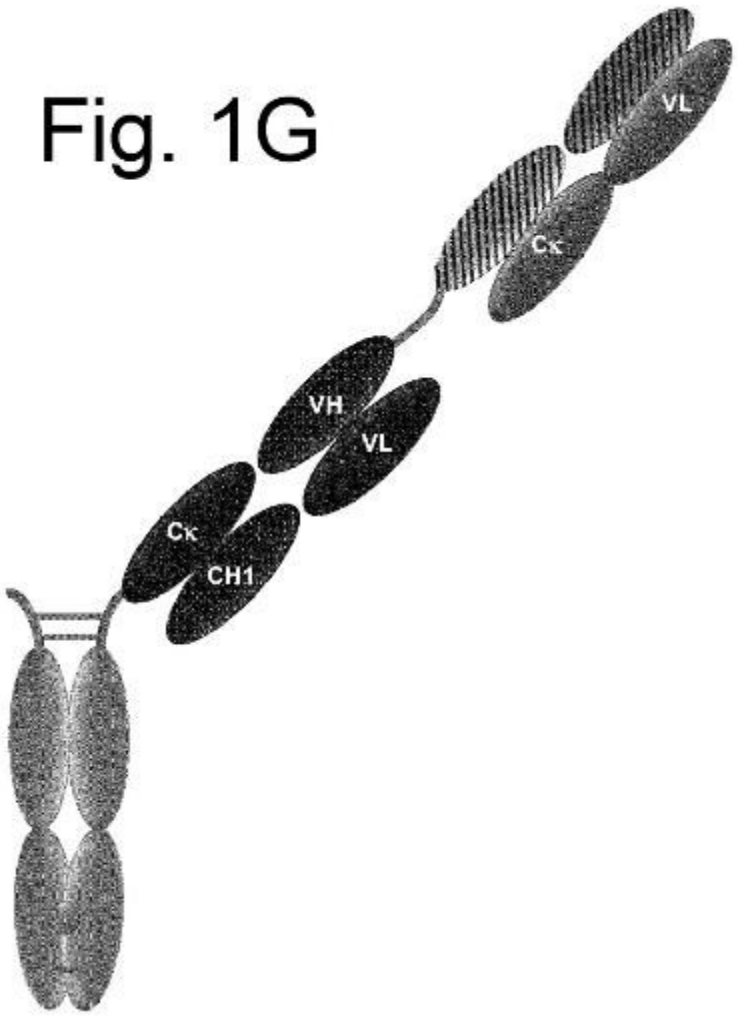


Fig. 1H

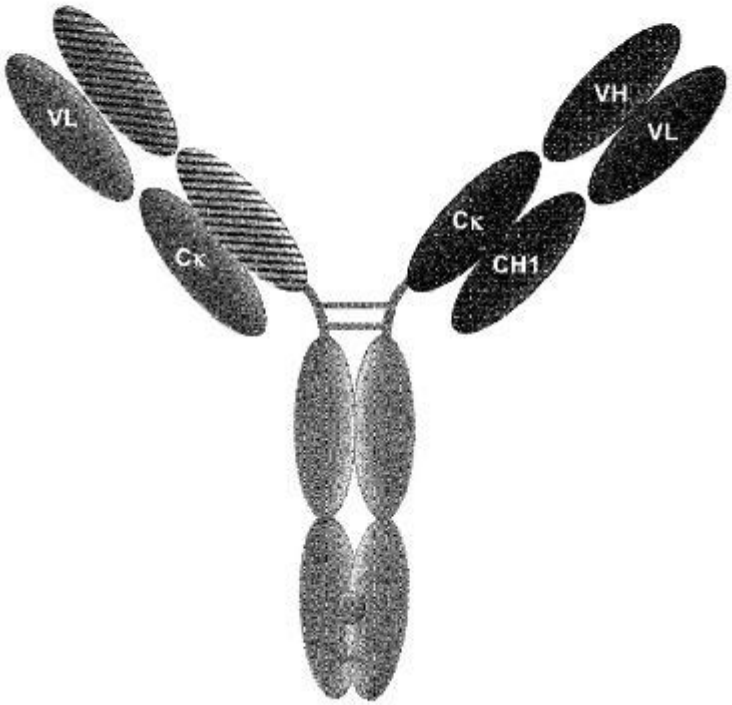


Fig. 1I

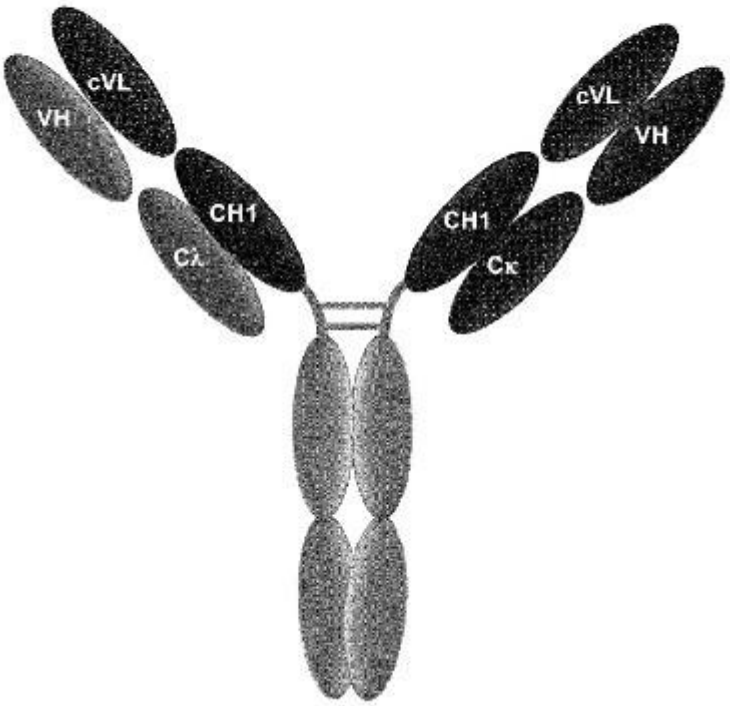


Fig. 2A

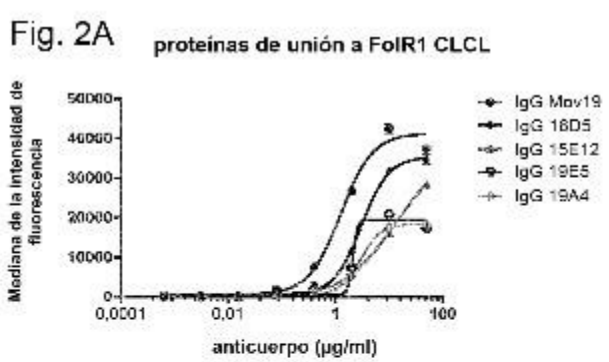


Fig. 2B

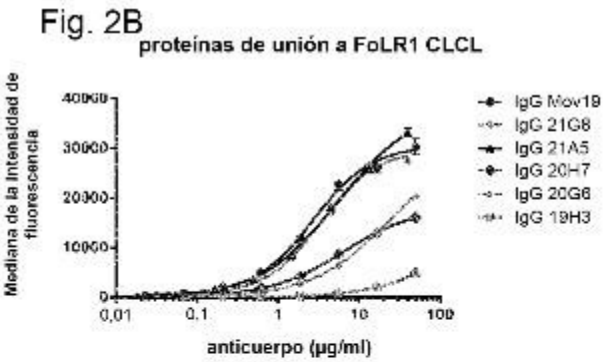


Fig. 2C

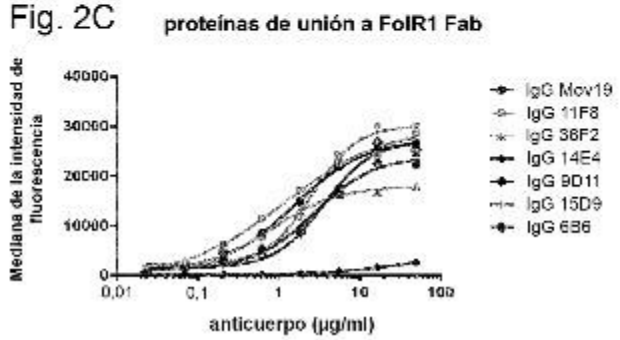


Fig. 3A

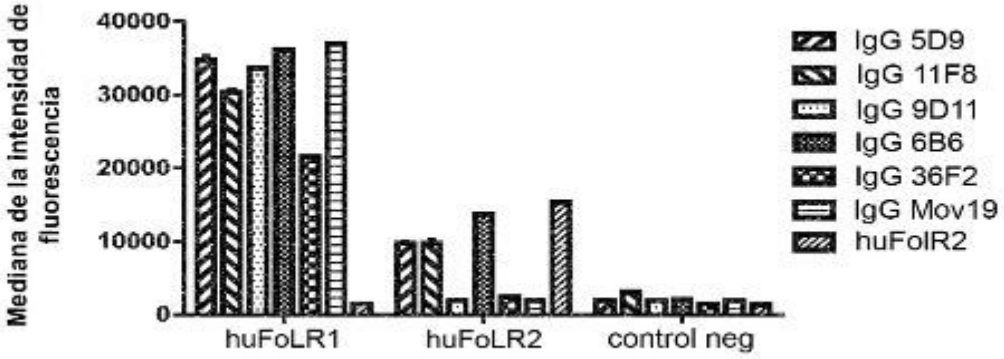

Mediana de la intensidad de fluorescencia
40000
30000
20000
10000
0
huFoLR1
huFoLR2
control neg
IgG 5D9
IgG 11F8
IgG 9D11
IgG 6B6
IgG 36F2
IgG Mov19
huFolR2

Fig. 3B

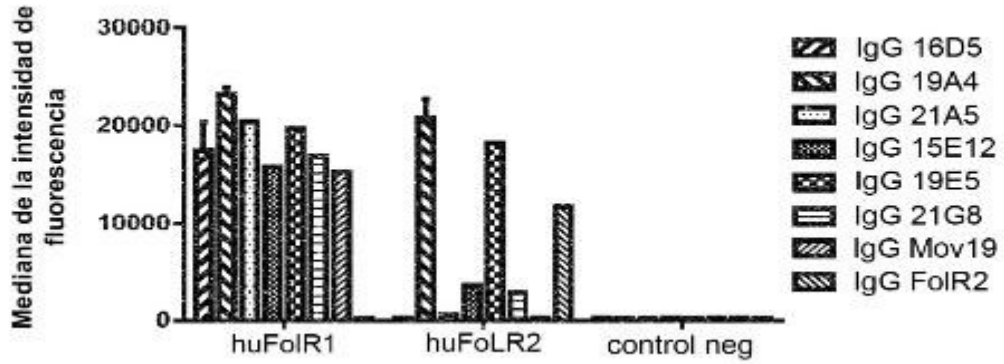

Mediana de la intensidad de fluorescencia
30000
20000
10000
0
huFolR1
huFoLR2
control neg
IgG 16D5
IgG 19A4
IgG 21A5
IgG 15E12
IgG 19E5
IgG 21G8
IgG Mov19
IgG FolR2

Fig. 4A

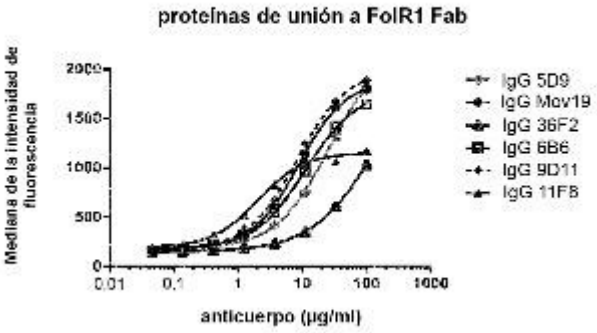

proteínas de unión a FolR1 Fab
Mediana de la intensidad de fluorescencia
2000
1500
1000
500
0
0,01
0,1
1
10
100
1000
anticuerpo (µg/ml)
IgG 5D9
IgG Mov19
IgG 36F2
IgG 6B6
IgG 9D11
IgG 11F8

Fig. 4B

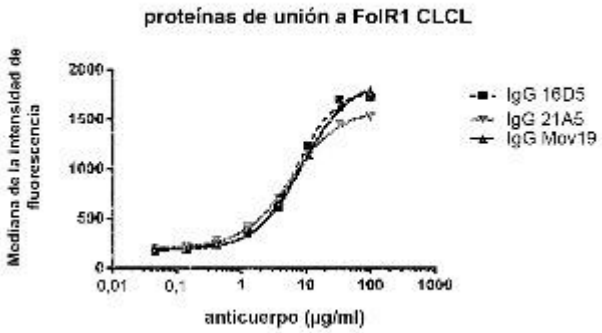

proteínas de unión a FolR1 CLCL
Mediana de la intensidad de fluorescencia
2000
1500
1000
500
0
0,01
0,1
1
10
100
1000
anticuerpo (µg/ml)
IgG 16D5
IgG 21A5
IgG Mov19

Fig. 5

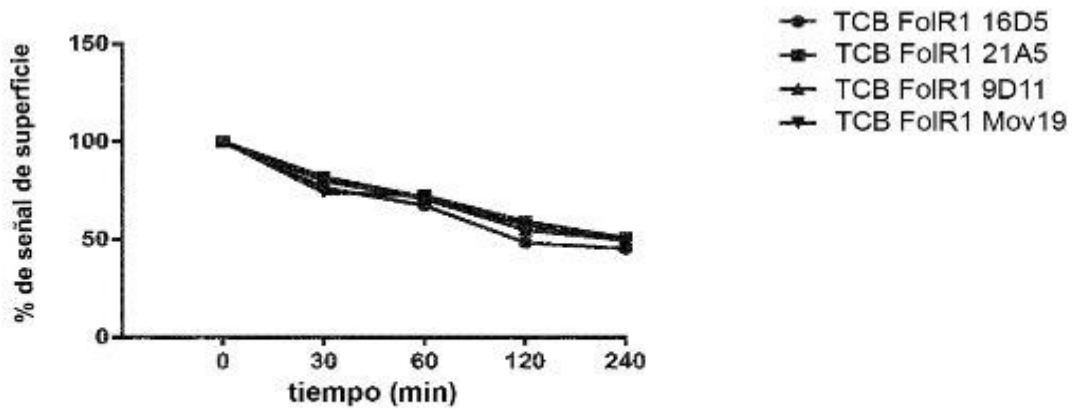

TCB FolR1 16D5
TCB FolR1 21A5
TCB FolR1 9D11
TCB FolR1 Mov19
% de señal de superficie
150
100
50
0
0
30
60
120
240
tiempo (min)

Fig. 6B

Skov3

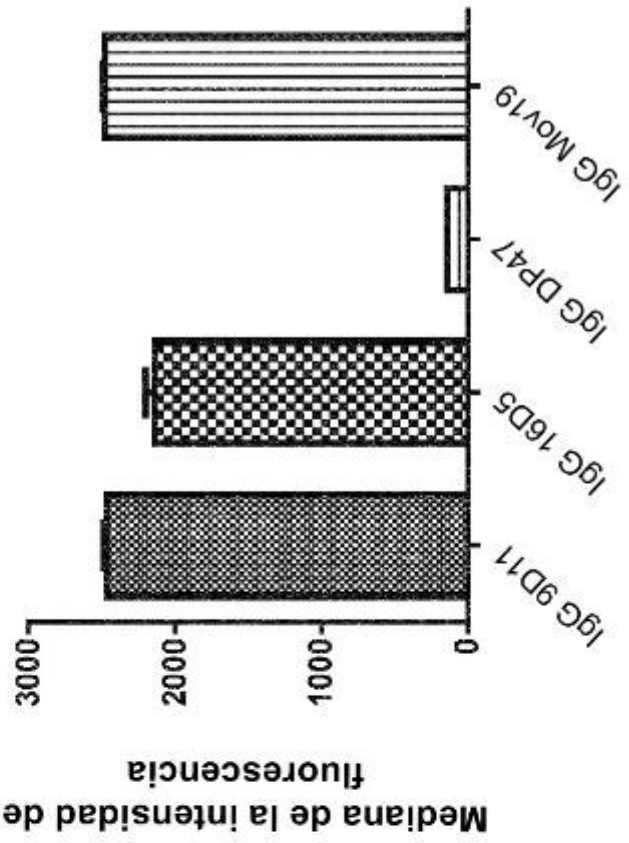


Fig. 6A

HeLa

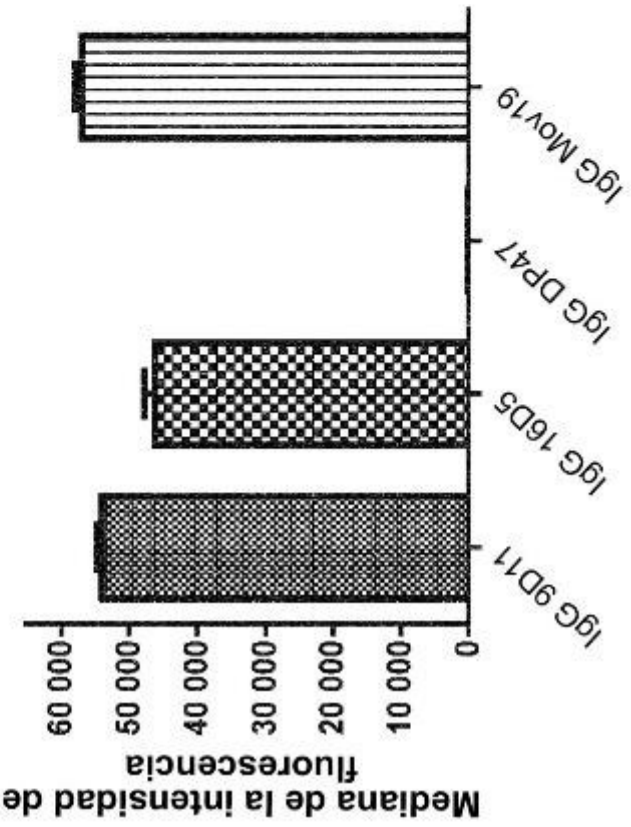


Fig. 6C

OVCAR5

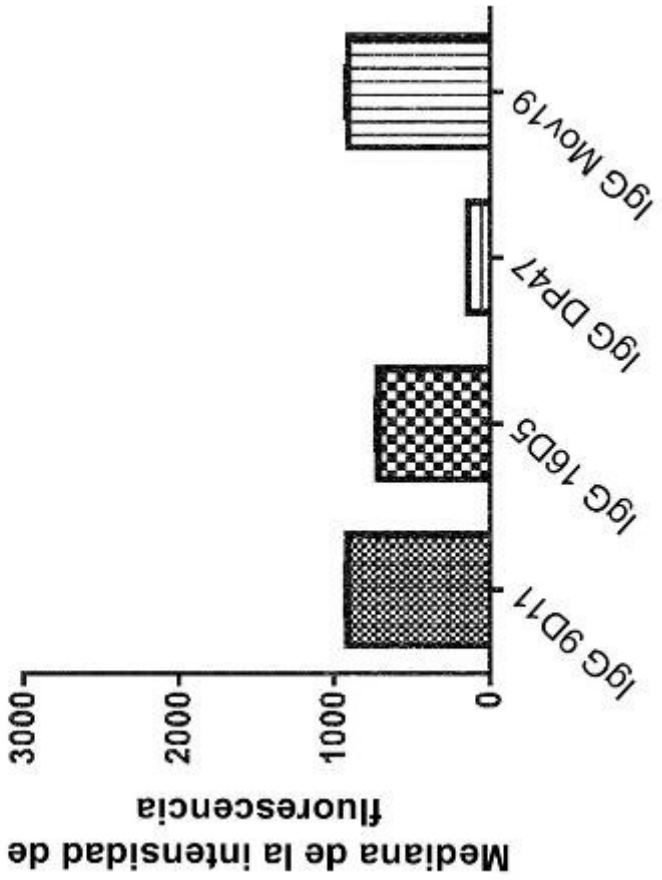


Fig. 6E

MKN45

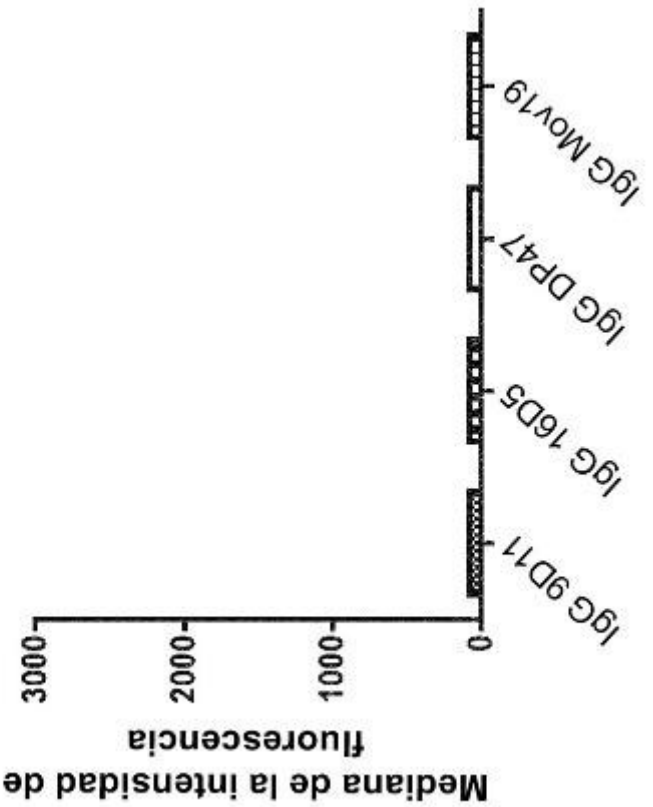
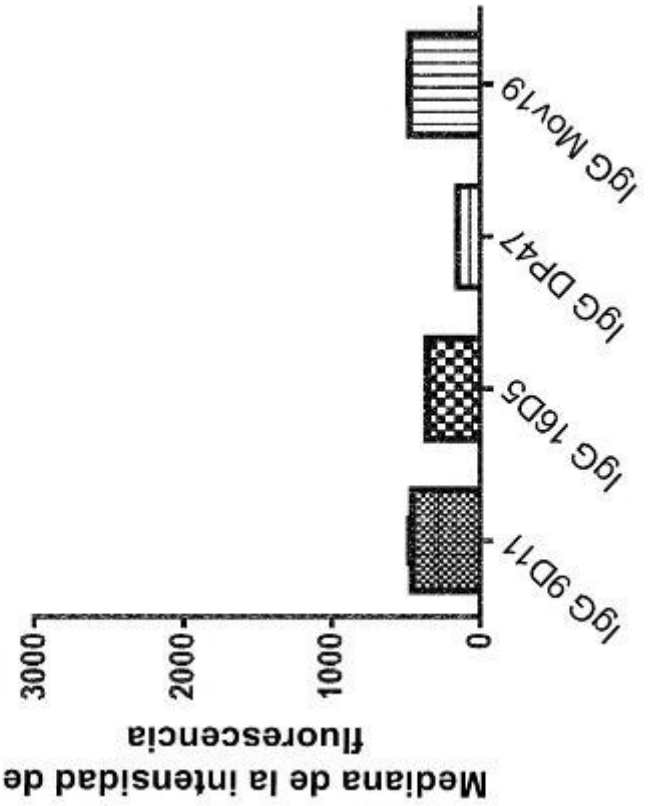


Fig. 6D

HT29



HT29

Fig. 7A

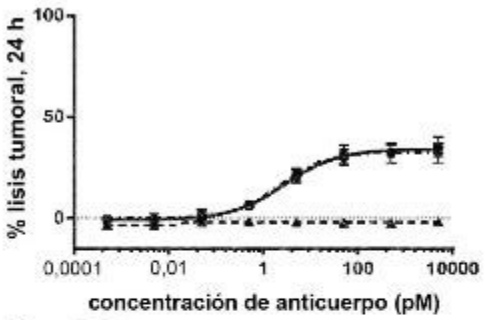
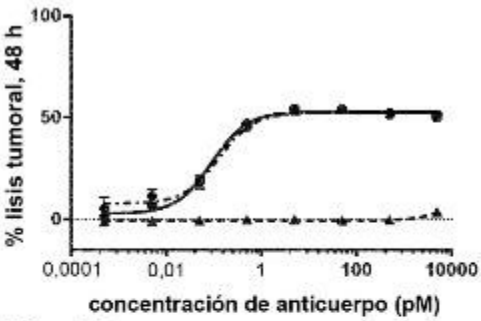


Fig. 7B



SKOV3

Fig. 7C

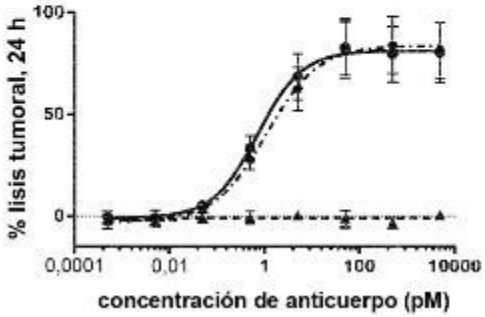
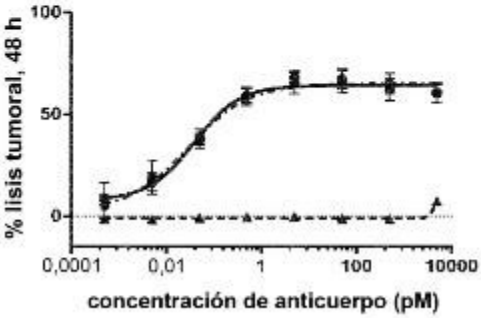


Fig. 7D



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 7E

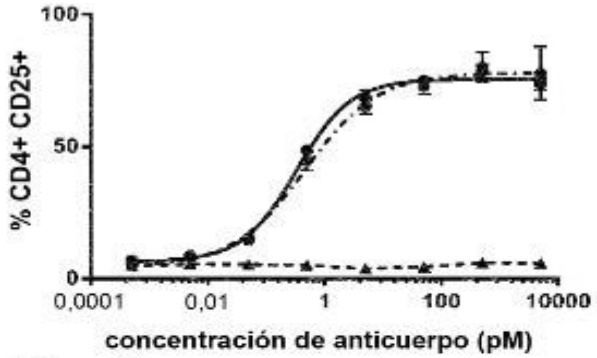


Fig. 7F

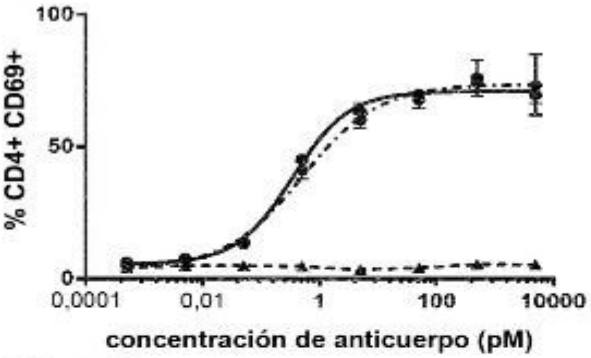


Fig. 7G

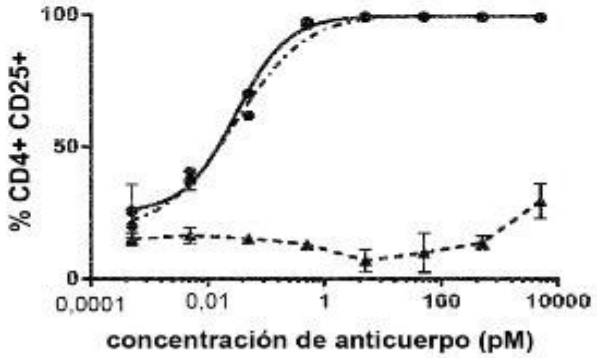
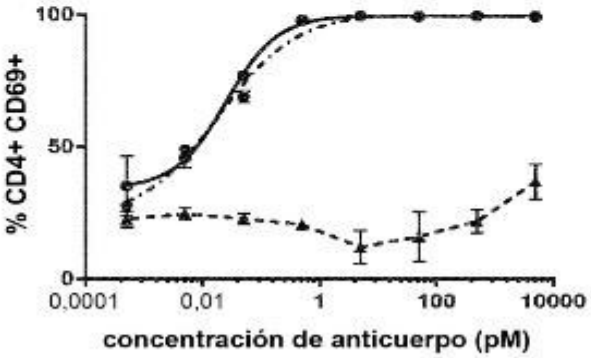


Fig. 7H



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 7I

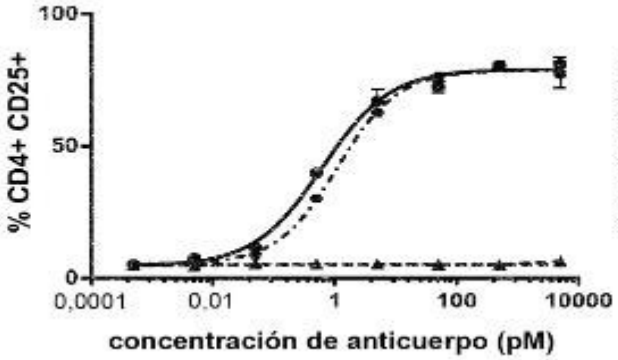


Fig. 7J

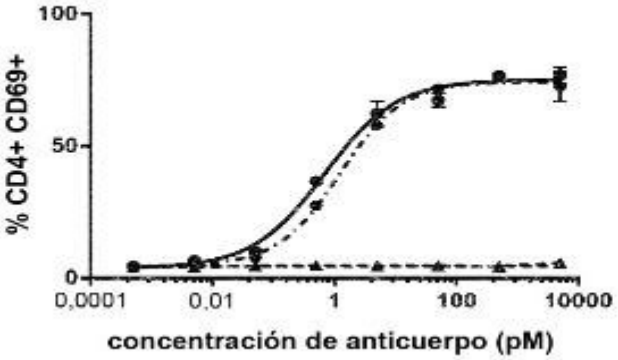


Fig. 7K

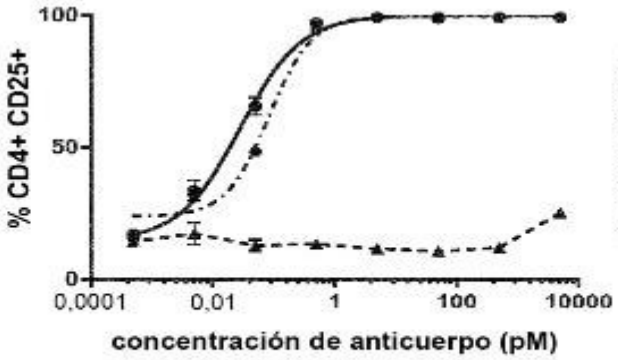
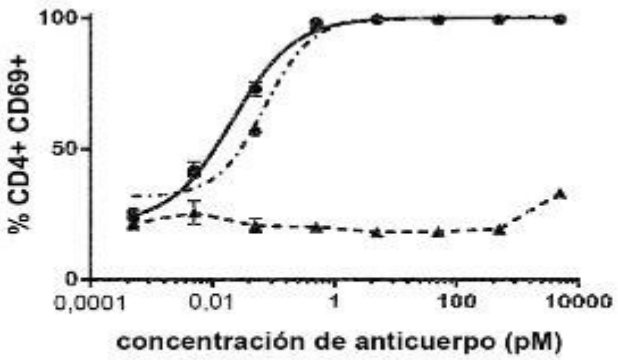


Fig. 7L



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 8

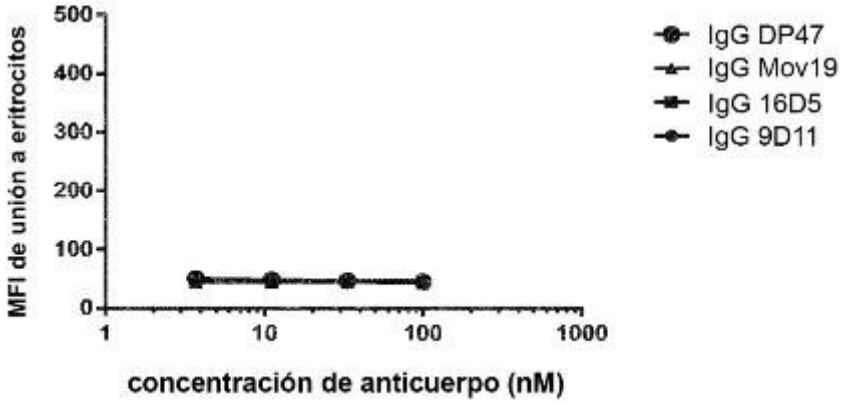

MFI de unión a eritrocitos
500
400
300
200
100
0
1
10
100
1000
concentración de anticuerpo (nM)
IgG DP47
IgG Mov19
IgG 16D5
IgG 9D11

Fig. 9A

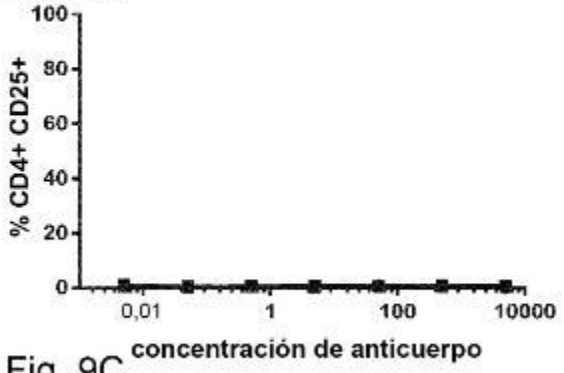


Fig. 9B

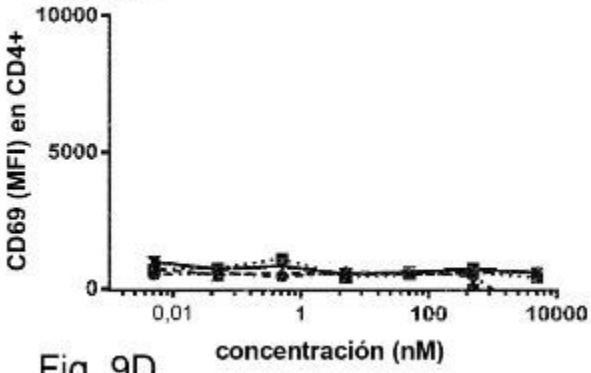


Fig. 9C

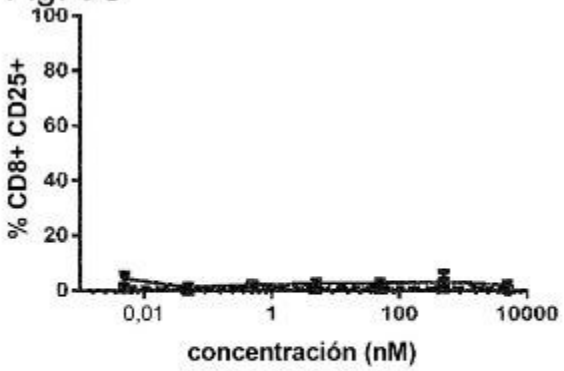
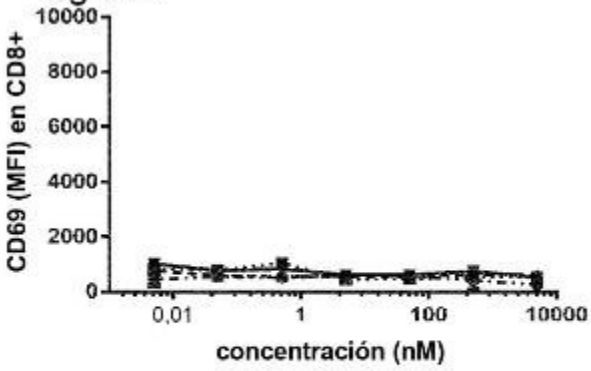
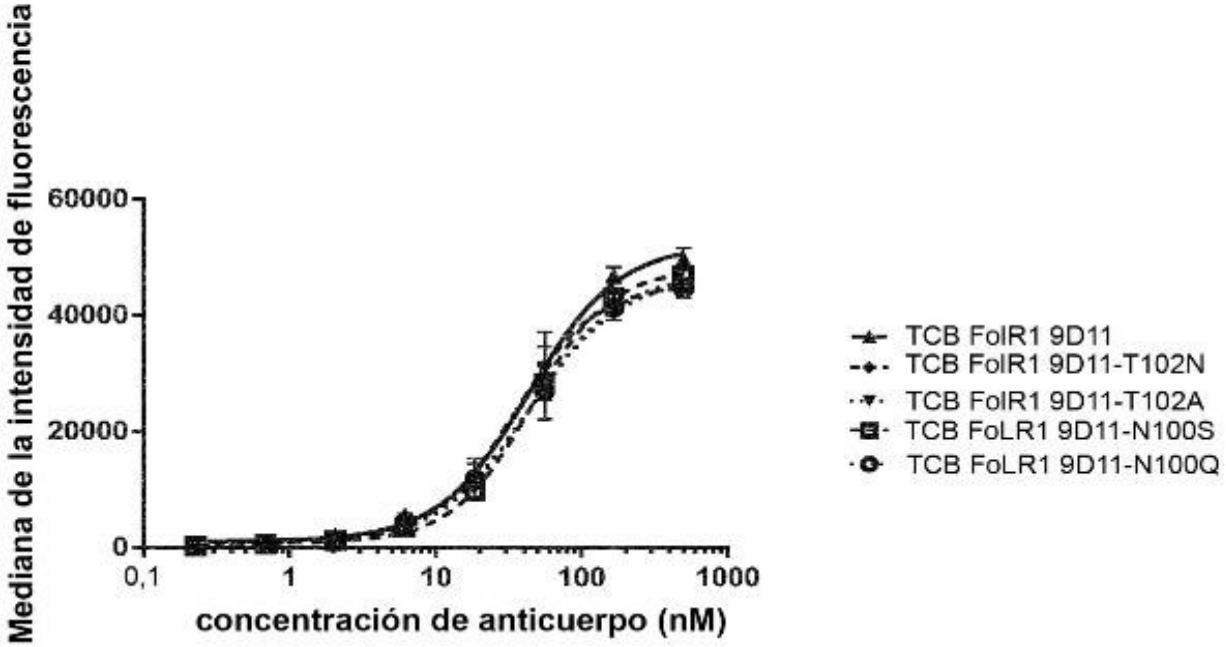


Fig. 9D

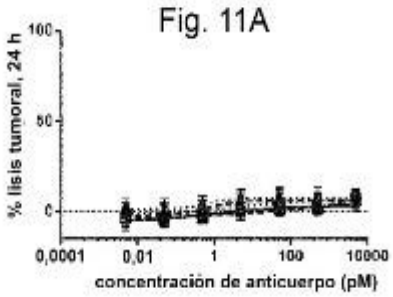


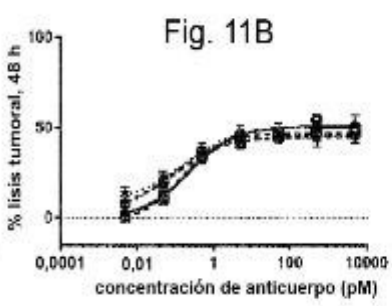
TCB Mov19 TCB 9D11 TCB 16D5 TCB DP47

Fig. 10


Mediana de la intensidad de fluorescencia
60000
40000
20000
0
0,1
1
10
100
1000
concentración de anticuerpo (nM)
TCB FolR1 9D11
TCB FolR1 9D11-T102N
TCB FolR1 9D11-T102A
TCB FoLR1 9D11-N100S
TCB FoLR1 9D11-N100Q

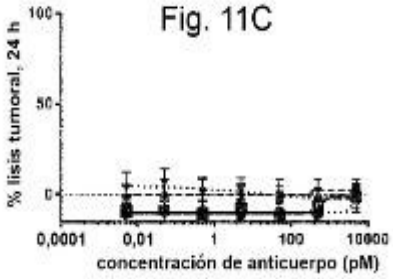
SKOV3


Fig. 11A
% lisis tumoral, 24 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)


Fig. 11B
% lisis tumoral, 48 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)


TCB FolR1 9D11
TCB FolR1 9D11-T102N
TCB FolR1 9D11-T102A
TCB FoLR1 9D11-N100S
TCB FoLR1 9D11-N100Q

MKN45


Fig. 11C
% lisis tumoral, 24 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)

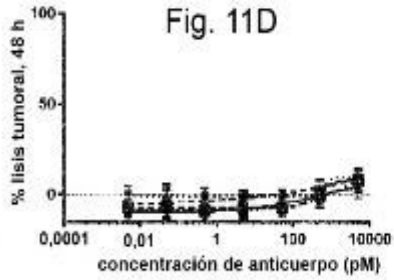
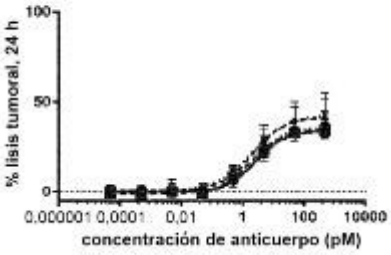

Fig. 11D
% lisis tumoral, 48 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)

Fig. 11E

Fig. 11F

HT29



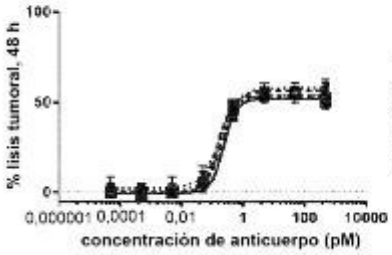




Fig. 12A
HRP

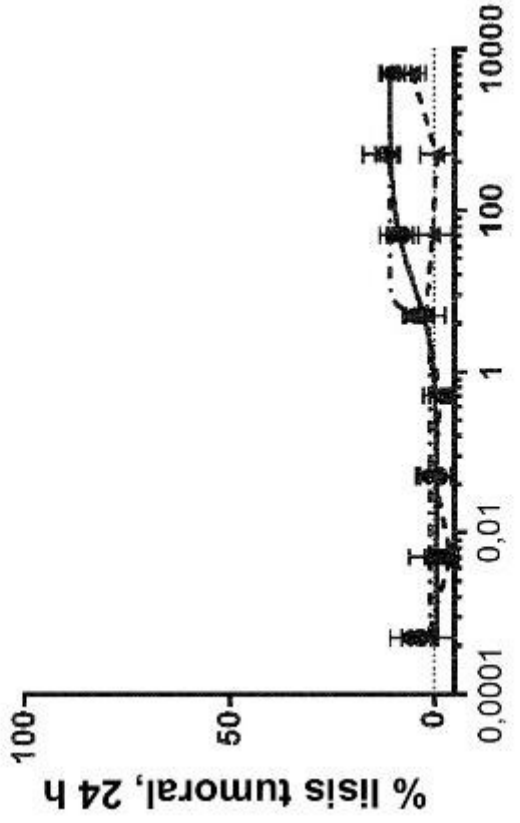


Fig. 12B
HRC

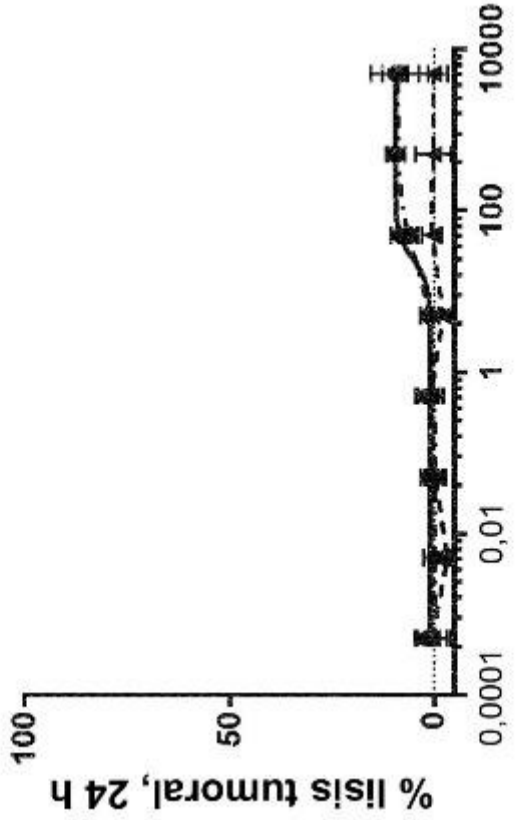


Fig. 12C
HB

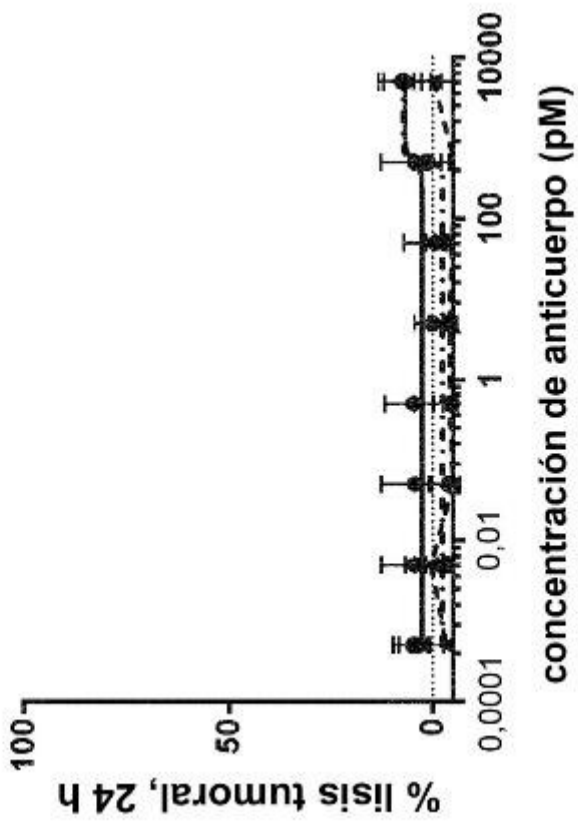


Fig. 12D
HT29

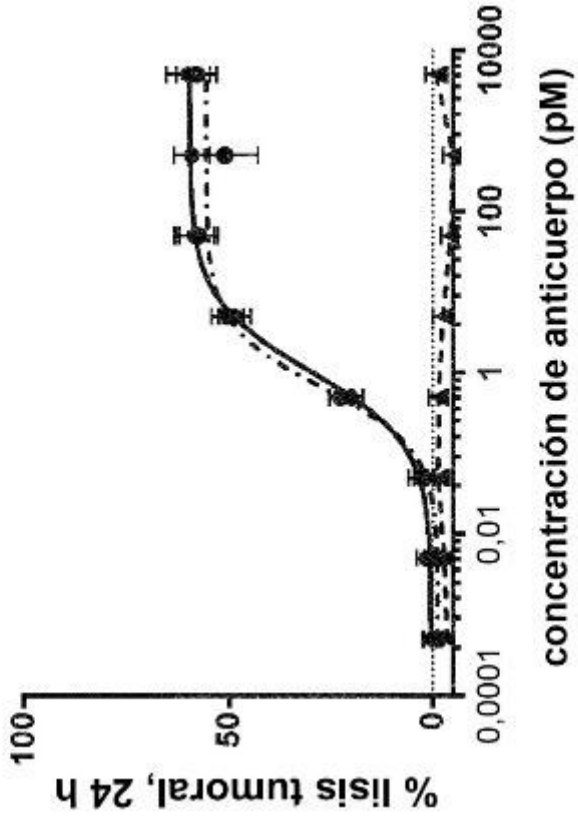


Fig. 12E

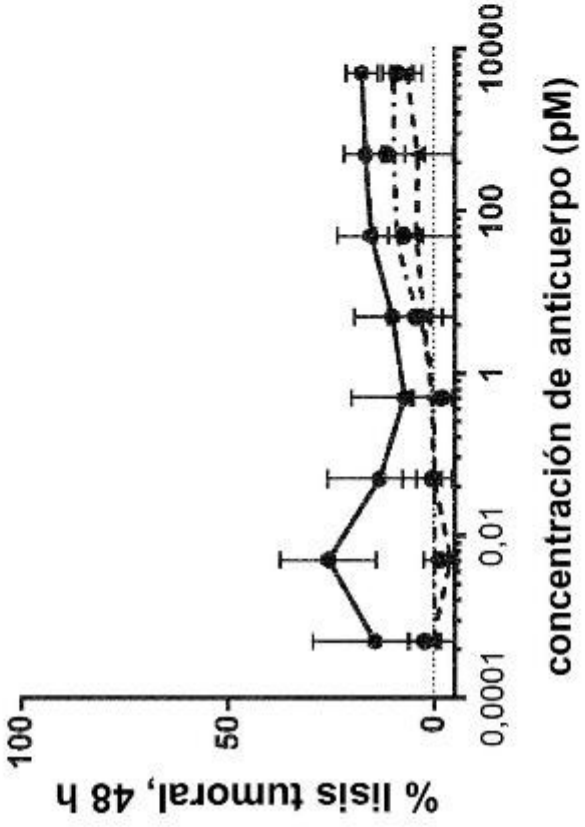


Fig. 12F

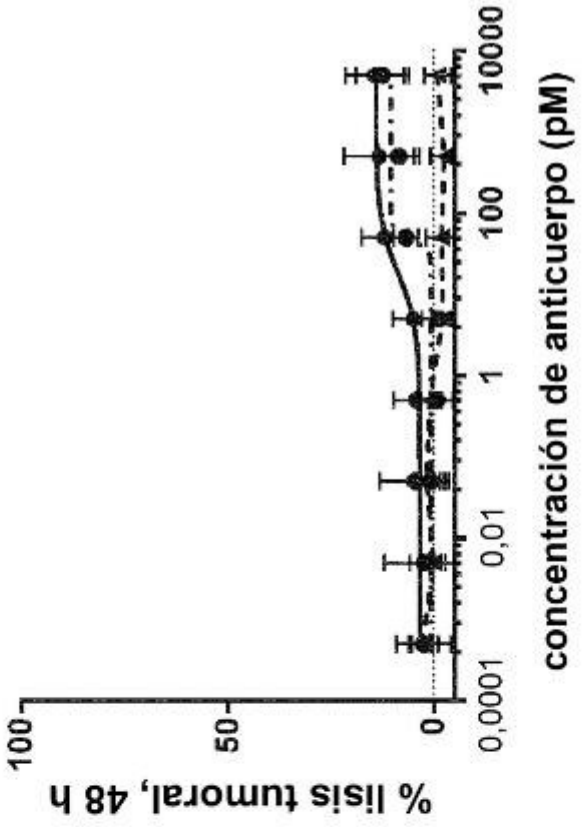


Fig. 12G

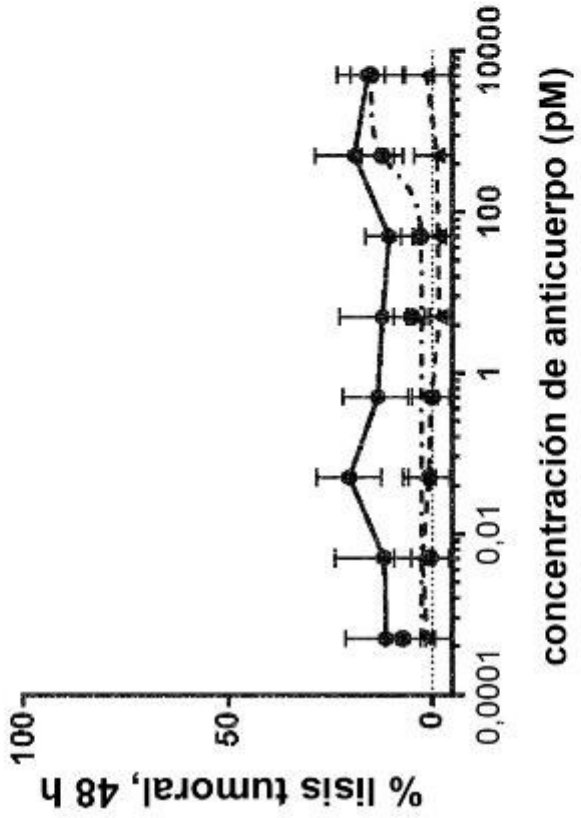


Fig. 12H

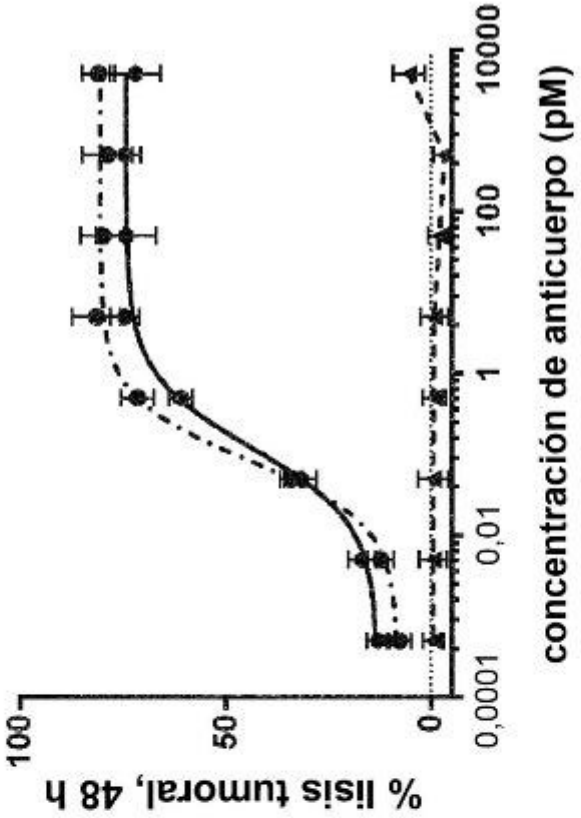
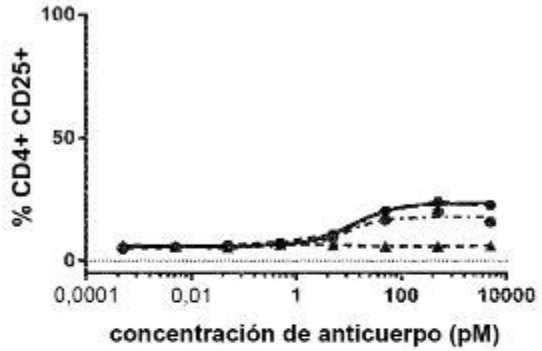


Fig. 12I



HRP

Fig. 12J

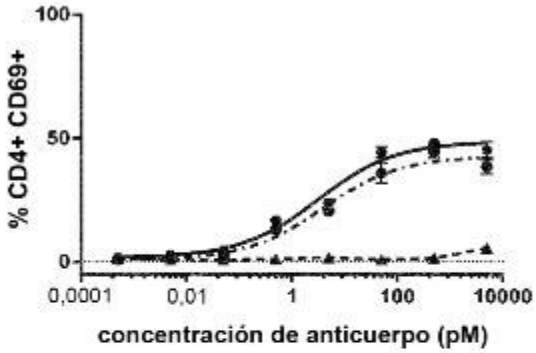


Fig. 12K

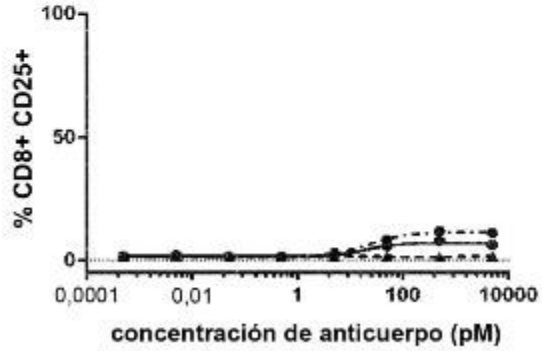
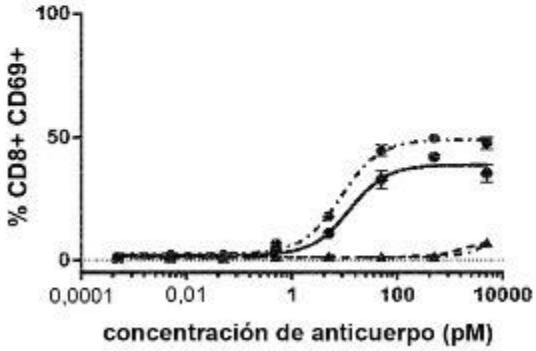


Fig. 12L



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 12M

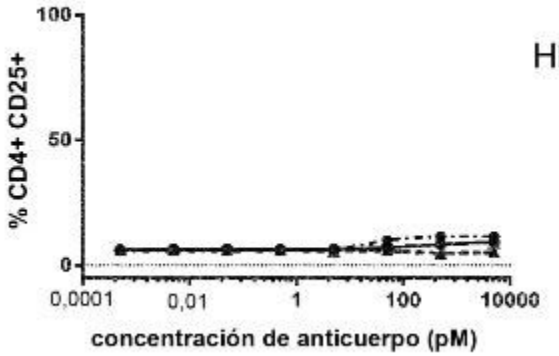


Fig. 12N

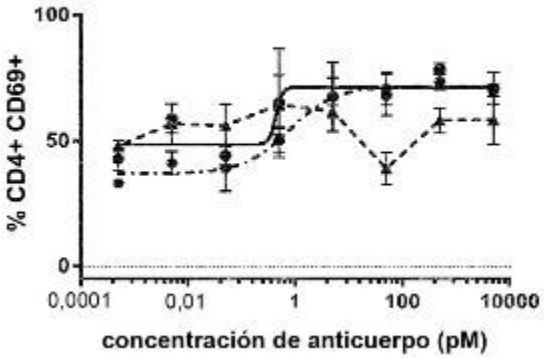


Fig. 12O

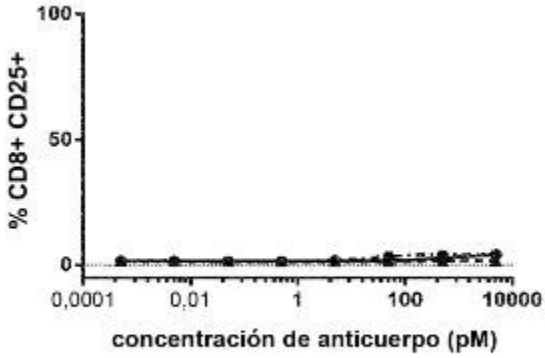
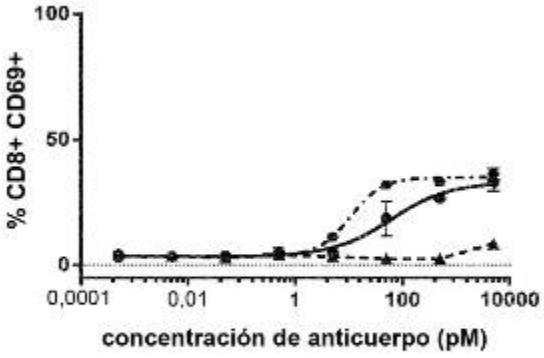


Fig. 12P



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 12Q

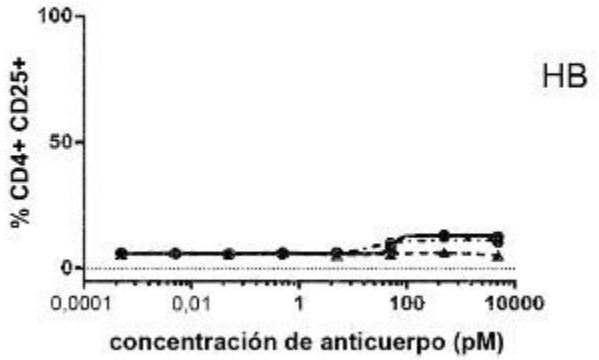


Fig. 12R

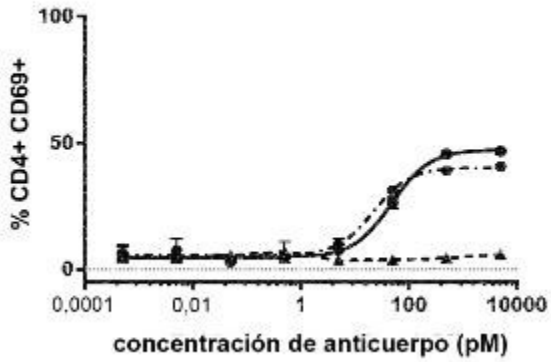


Fig. 12S

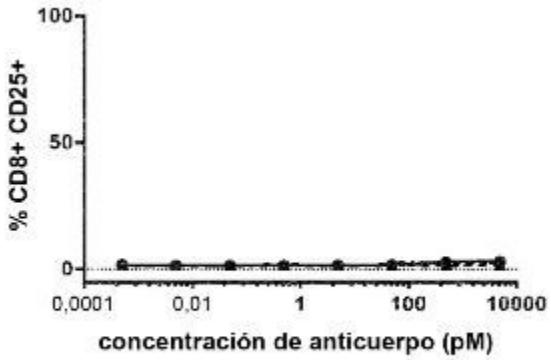


Fig. 12T

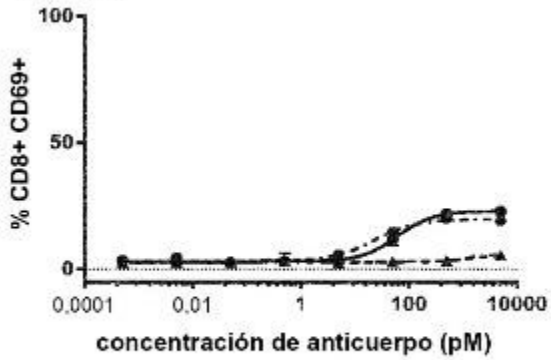
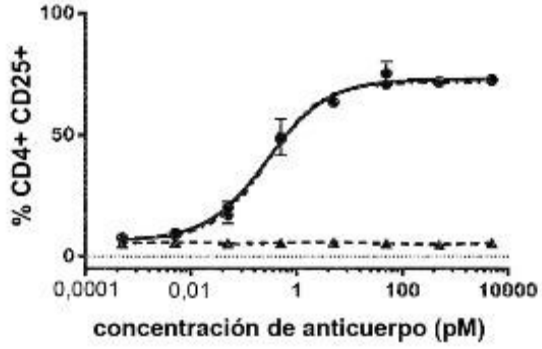




Fig. 12U



HT29

Fig. 12V

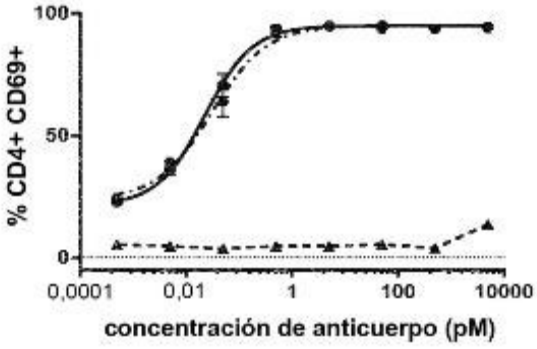


Fig. 12W

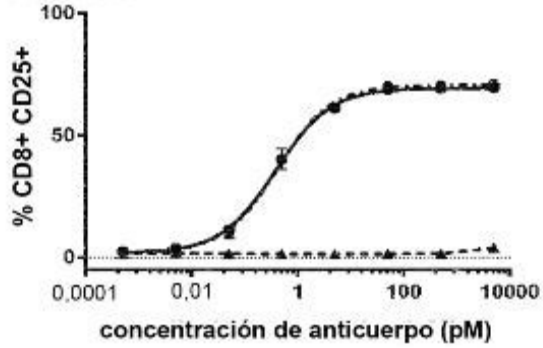
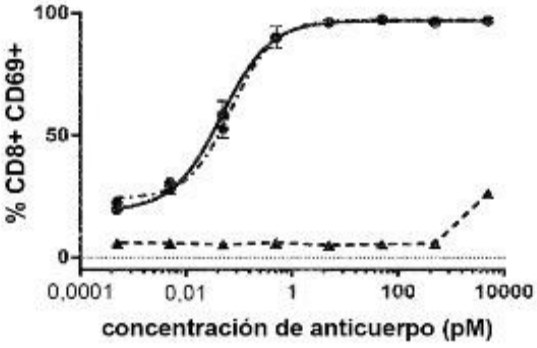


Fig. 12X



TCB FolR1 16D5 TCB FolR1 9D11 TCB DP47

Fig. 13A

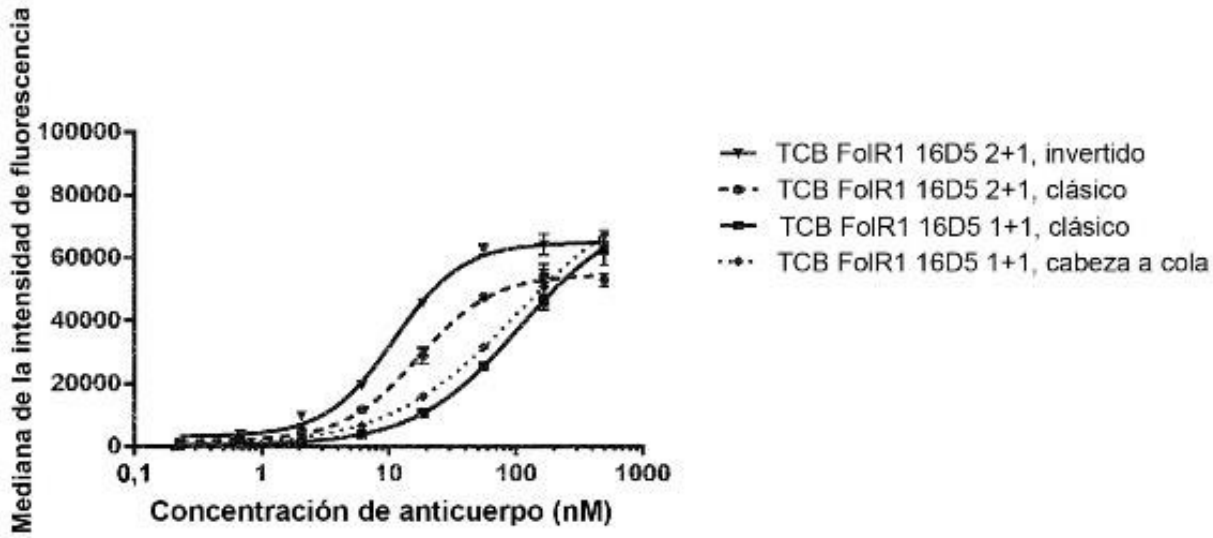

Mediana de la intensidad de fluorescencia
100000
80000
60000
40000
20000
0
0,1
1
10
100
1000
Concentración de anticuerpo (nM)
TCB FolR1 16D5 2+1, invertido
TCB FolR1 16D5 2+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, cabeza a cola

Fig. 13B

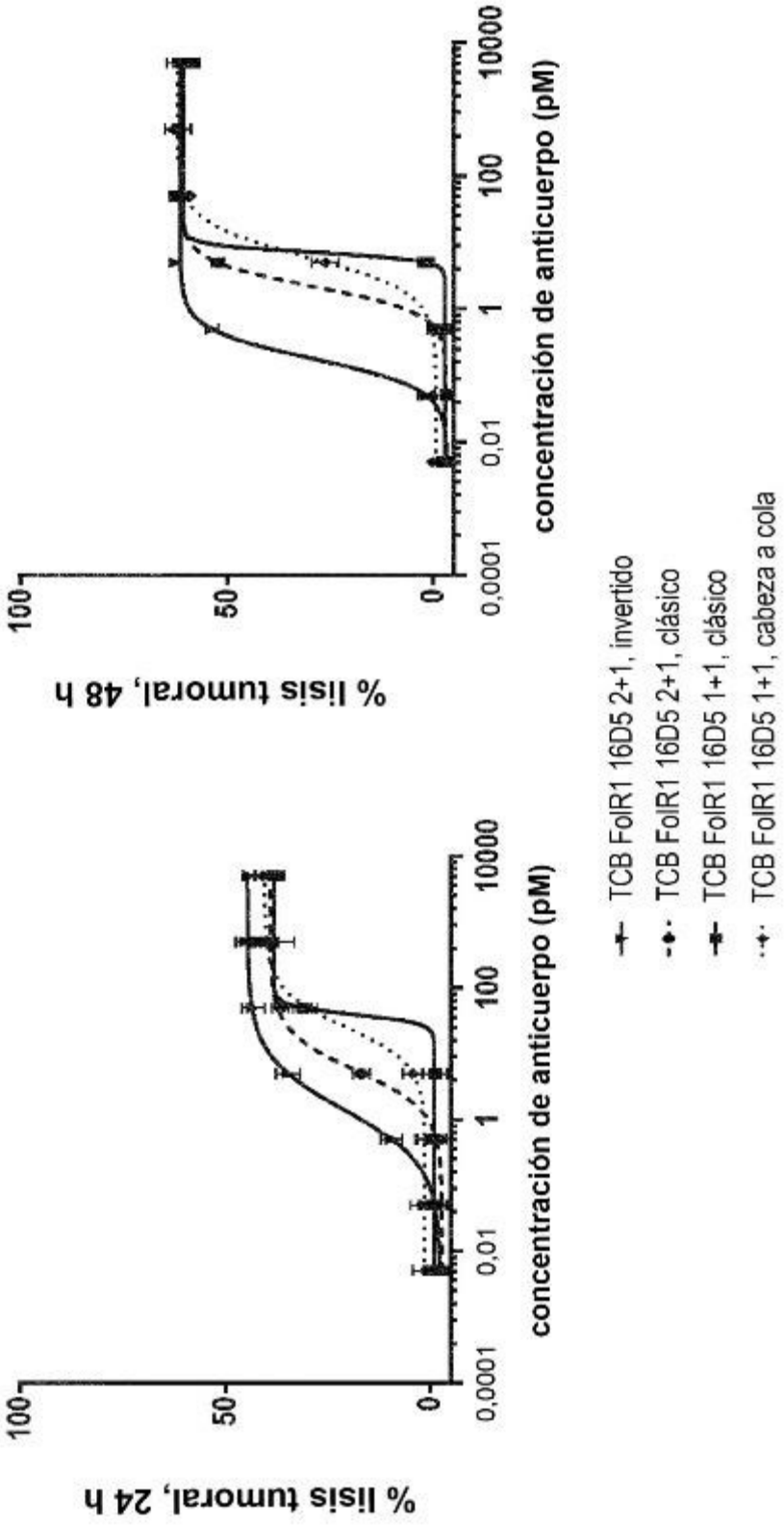

% lisis tumoral, 24 h
% lisis tumoral, 48 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB FolR1 16D5 2+1, invertido
TCB FolR1 16D5 2+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, cabeza a cola

Fig. 13C

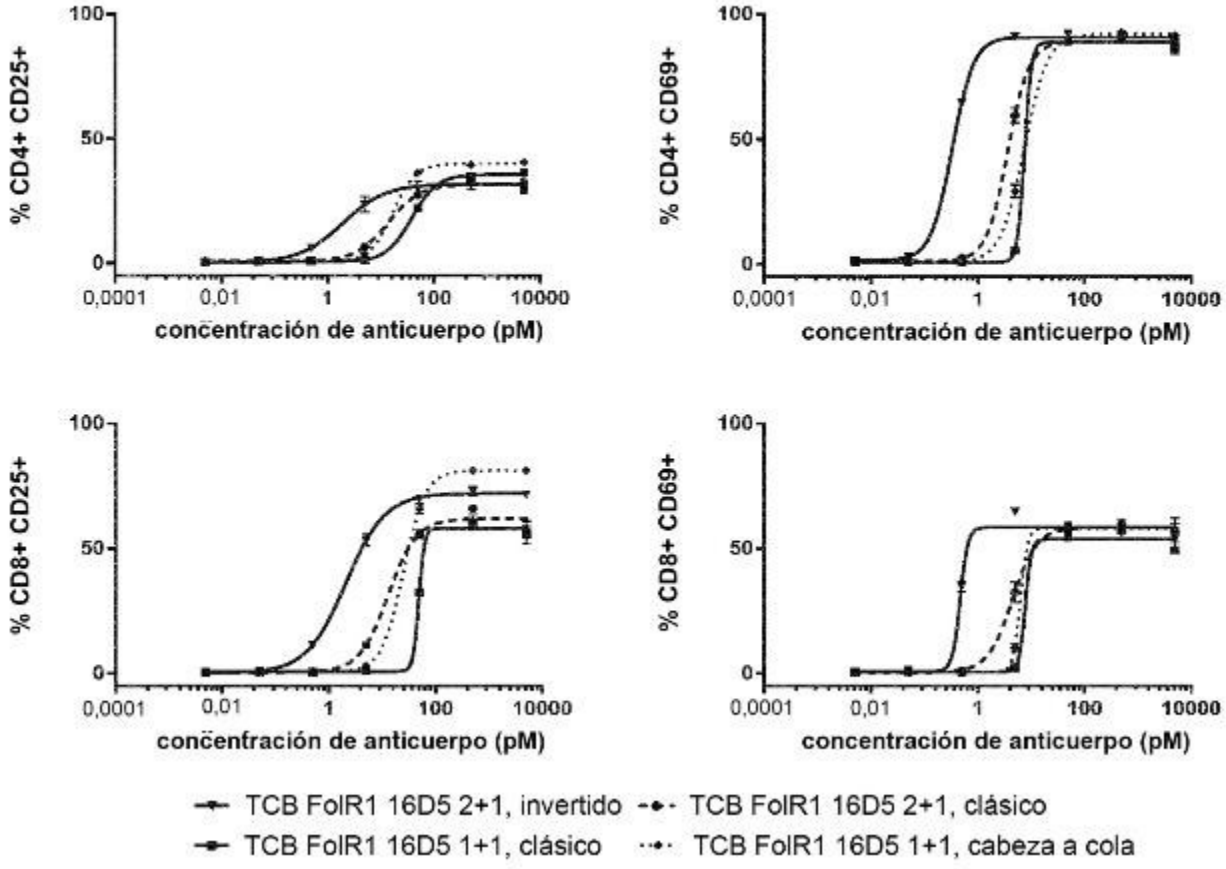

% CD4+ CD25+
% CD4+ CD69+
% CD8+ CD25+
% CD8+ CD69+
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB FolR1 16D5 2+1, invertido
TCB FolR1 16D5 2+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, clásico
TCB FolR1 16D5 1+1, cabeza a cola

Fig. 14A

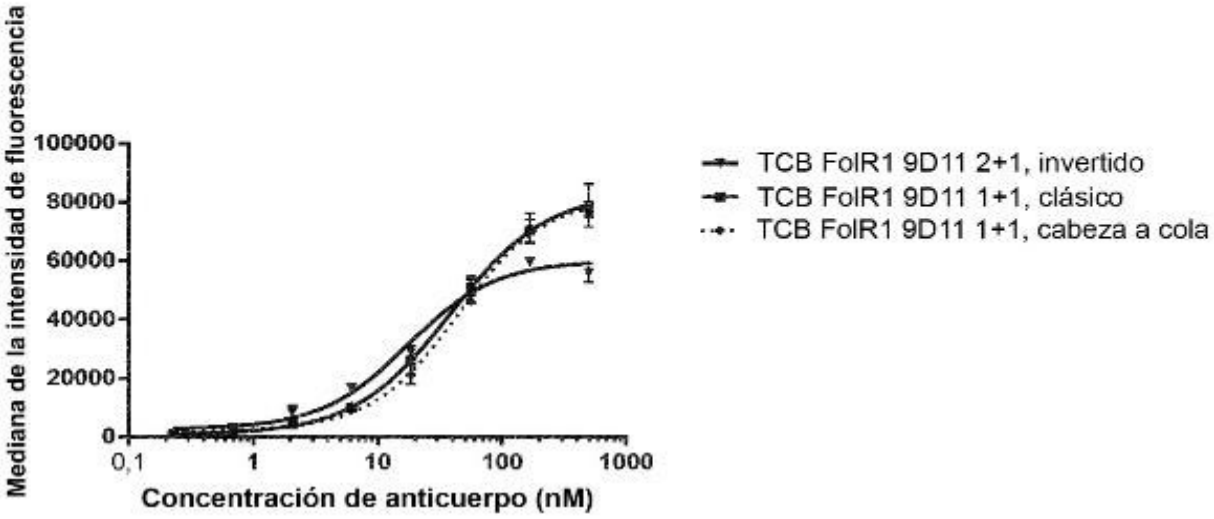

Mediana de la intensidad de fluorescencia
100000
80000
60000
40000
20000
0
0,1
1
10
100
1000
Concentración de anticuerpo (nM)
TCB FolR1 9D11 2+1, invertido
TCB FolR1 9D11 1+1, clásico
TCB FolR1 9D11 1+1, cabeza a cola

Fig. 14B

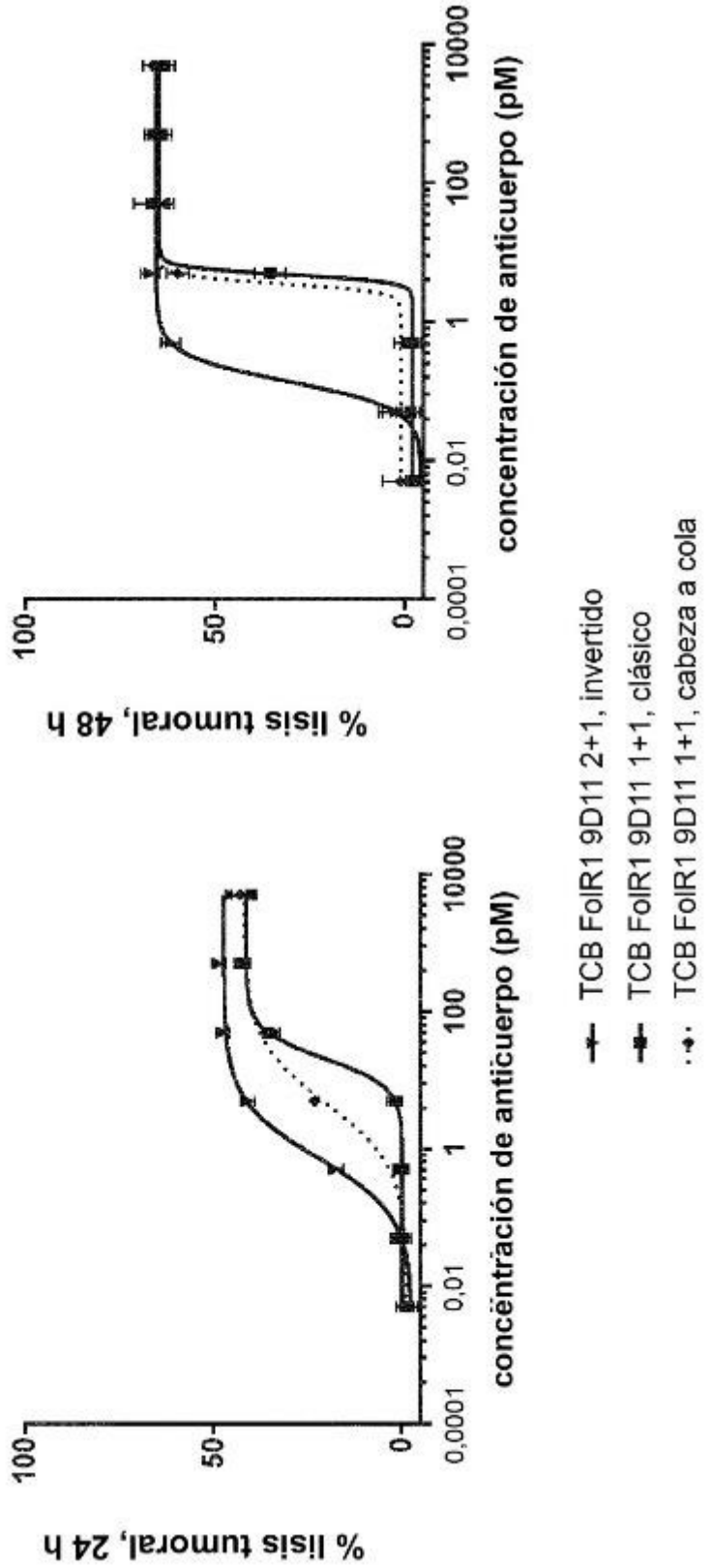

% lisis tumoral, 24 h
% lisis tumoral, 48 h
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB FolR1 9D11 2+1, invertido
TCB FolR1 9D11 1+1, clásico
TCB FolR1 9D11 1+1, cabeza a cola

Fig. 14C

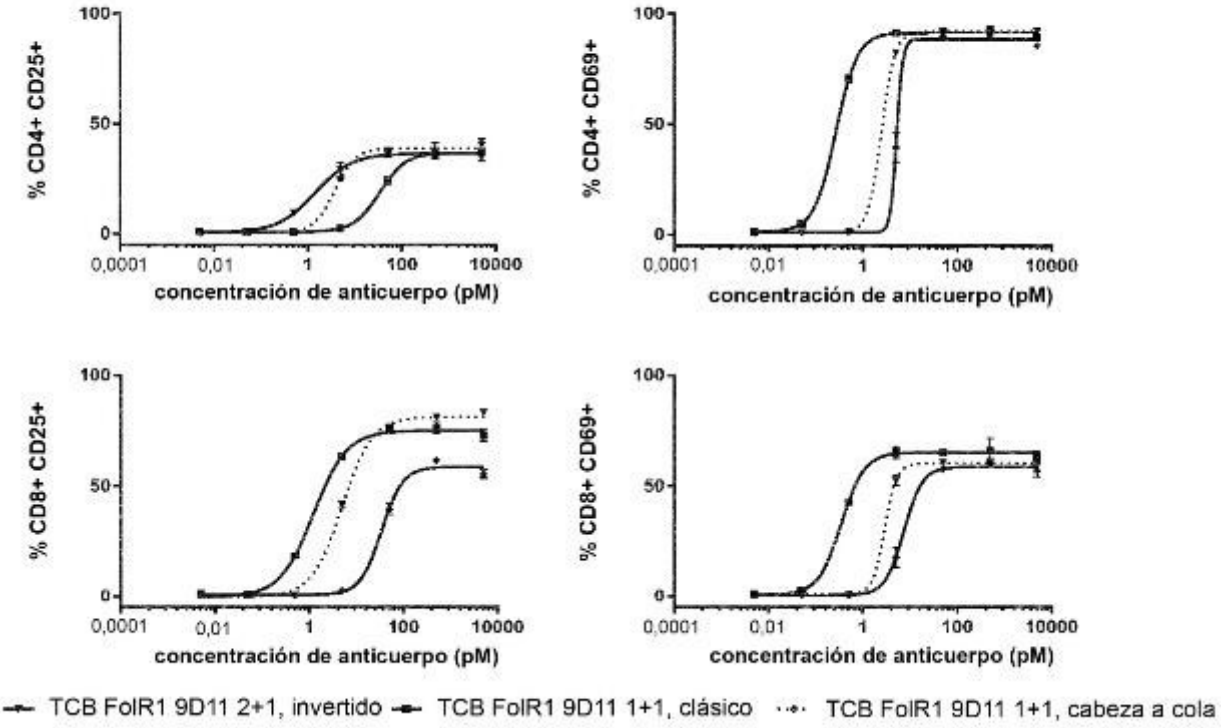
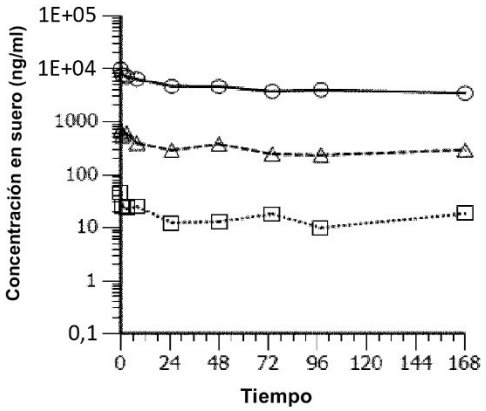

% CD4+ CD25+
% CD4+ CD69+
% CD8+ CD25+
% CD8+ CD69+
100
50
0
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB FolR1 9D11 2+1, invertido
TCB FolR1 9D11 1+1, clásico
TCB FolR1 9D11 1+1, cabeza a cola

Fig. 15



Dosis µg/ratón	Días de semivida
0,1	7,5
1	5,9
10	13,6

Fig. 16

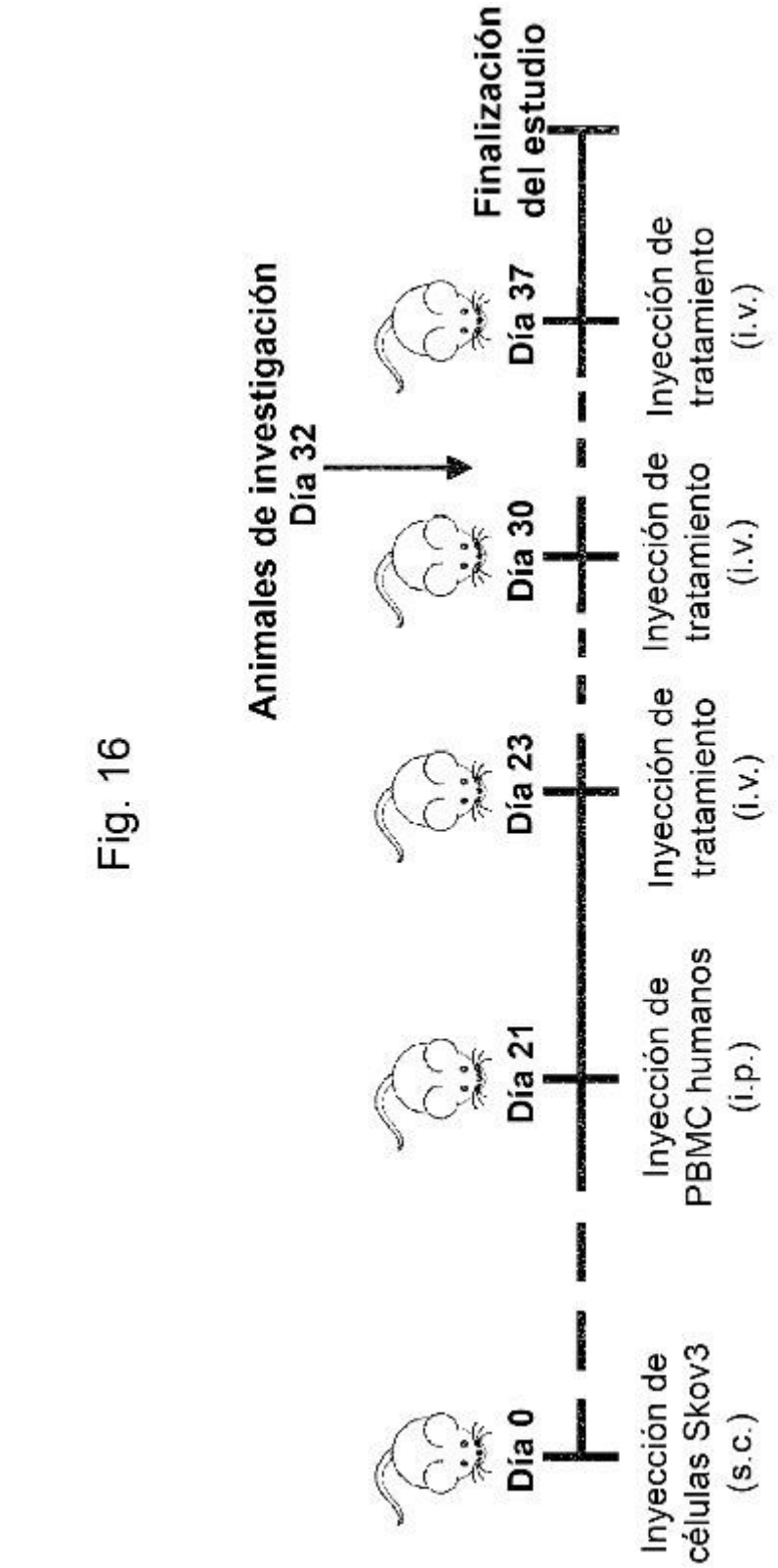

Día 0
Inyección de células Skov3 (s.c.)
Día 21
Inyección de PBMC humanos (i.p.)
Día 23
Inyección de tratamiento (i.v.)
Día 30
Inyección de tratamiento (i.v.)
Animales de investigación
Día 32
Día 37
Inyección de tratamiento (i.v.)
Finalización del estudio

Fig. 17A

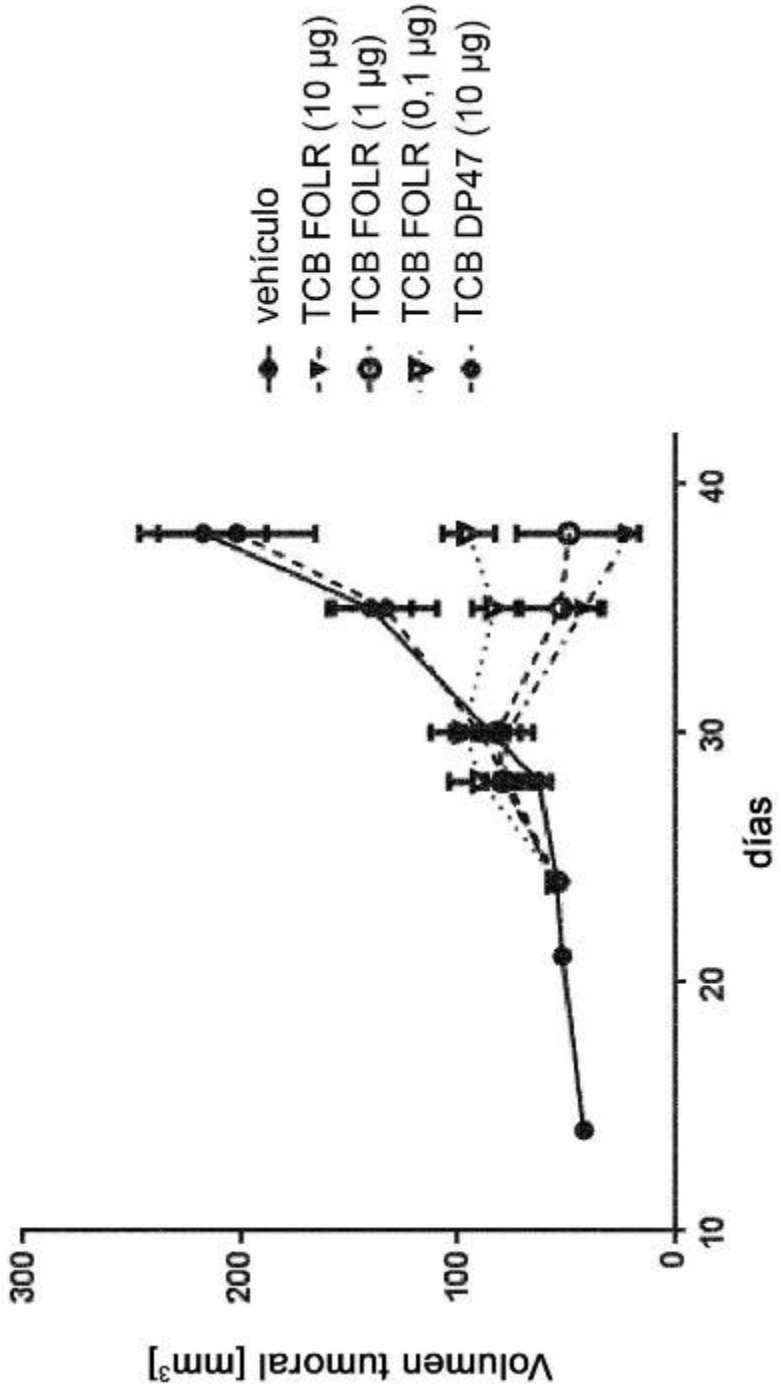

vehículo
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)
TCB DP47 (10 µg)
Volumen tumoral [mm³]
300
200
100
0
10
20
30
40
días

Fig. 17B

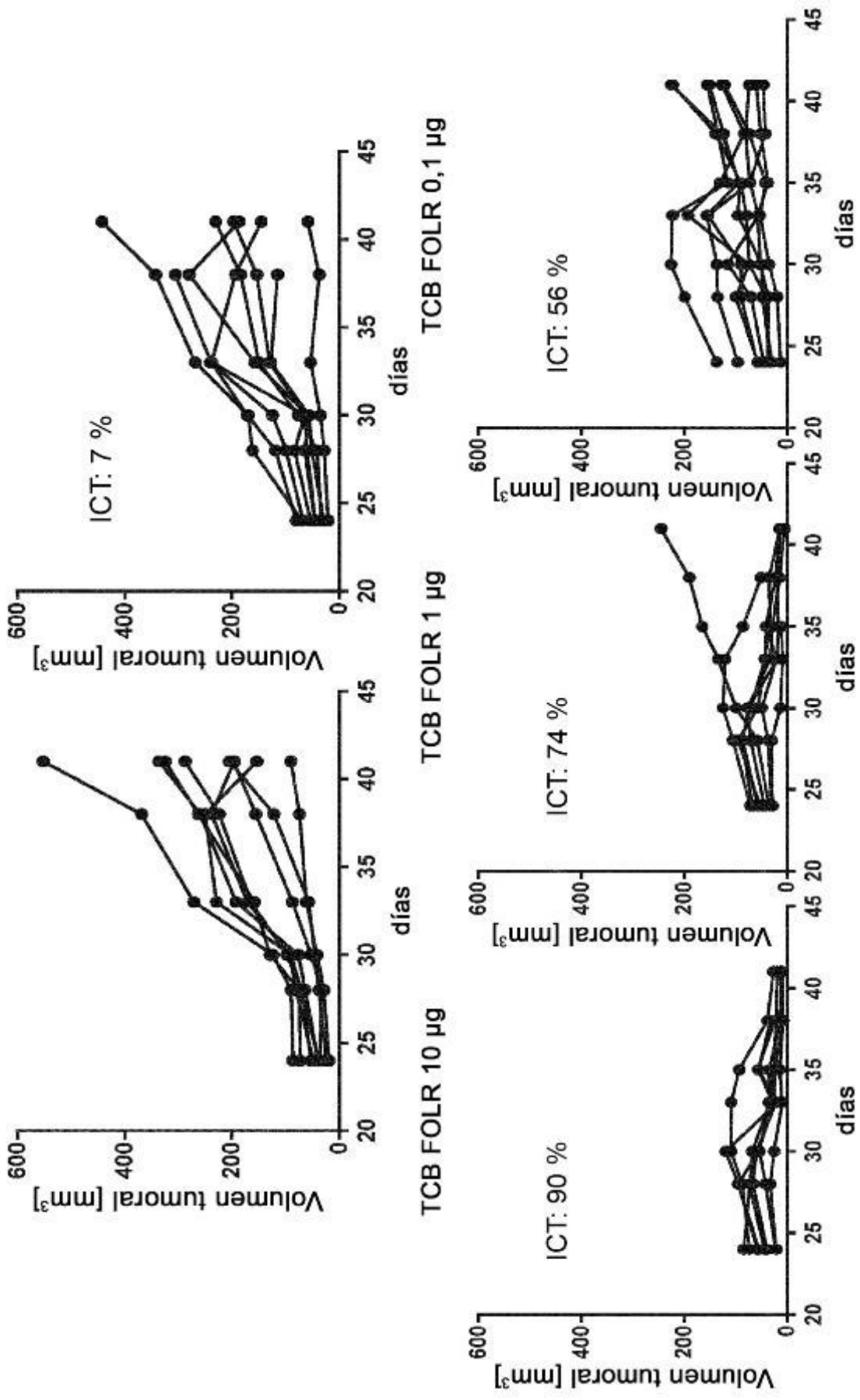
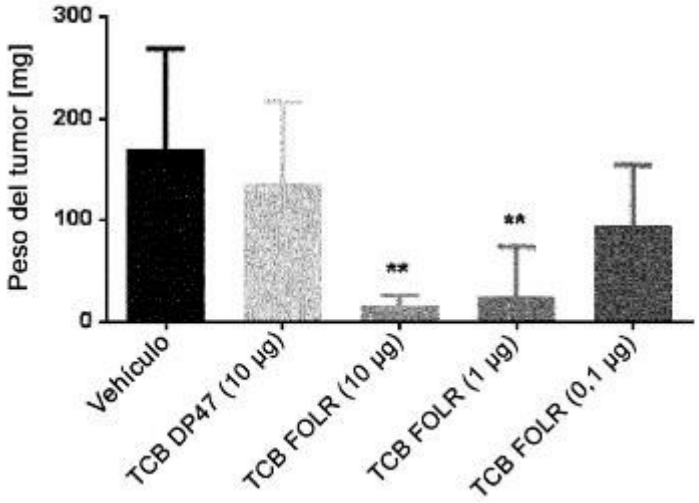

Vehículo
TCB DP47 10 µg
TCB FOLR 10 µg
TCB FOLR 1 µg
TCB FOLR 0,1 µg
ICT: 7 %
ICT: 90 %
ICT: 74 %
ICT: 56 %
Volumen tumoral [mm³]
días
0
200
400
600
20
25
30
35
40
45

Fig. 18



** p≤0,01 (en comparación con el grupo de vehículo)
Prueba de la t: para datos independientes, bilateral

Fig. 19A

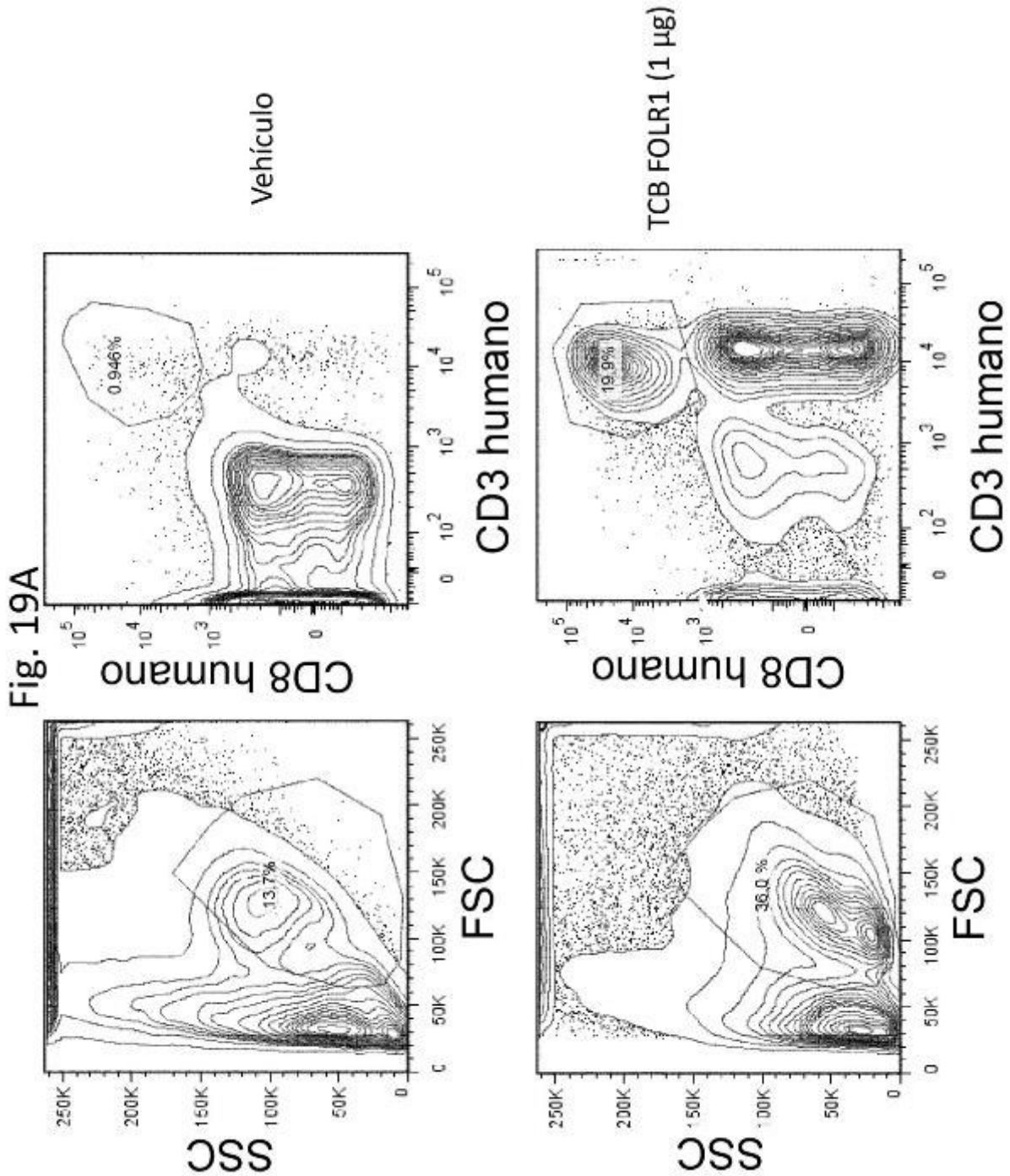
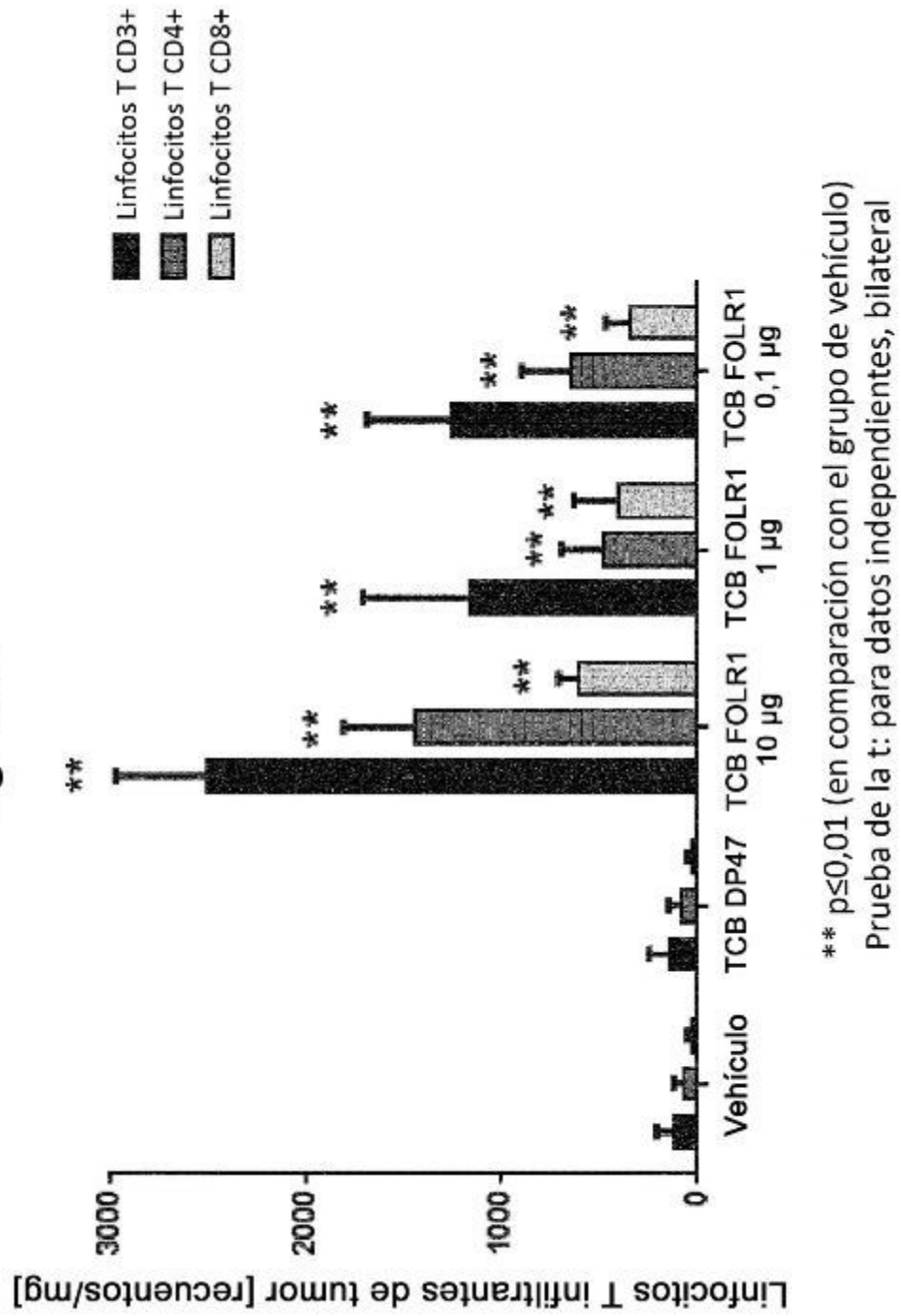

Vehículo
TCB FOLR1 (1 µg)
CD8 humano
CD3 humano
SSC
FSC
0.946%
13.7%
19.9%
36.0 %

Fig. 19B


Linfocitos T CD3+
Linfocitos T CD4+
Linfocitos T CD8+
Linfocitos T infiltrantes de tumor [recuentos/mg]
3000
2000
1000
0
**
Vehículo
TCB DP47
TCB FOLR1 10 µg
TCB FOLR1 1 µg
TCB FOLR1 0,1 µg
** p≤0,01 (en comparación con el grupo de vehículo)
Prueba de la t: para datos independientes, bilateral

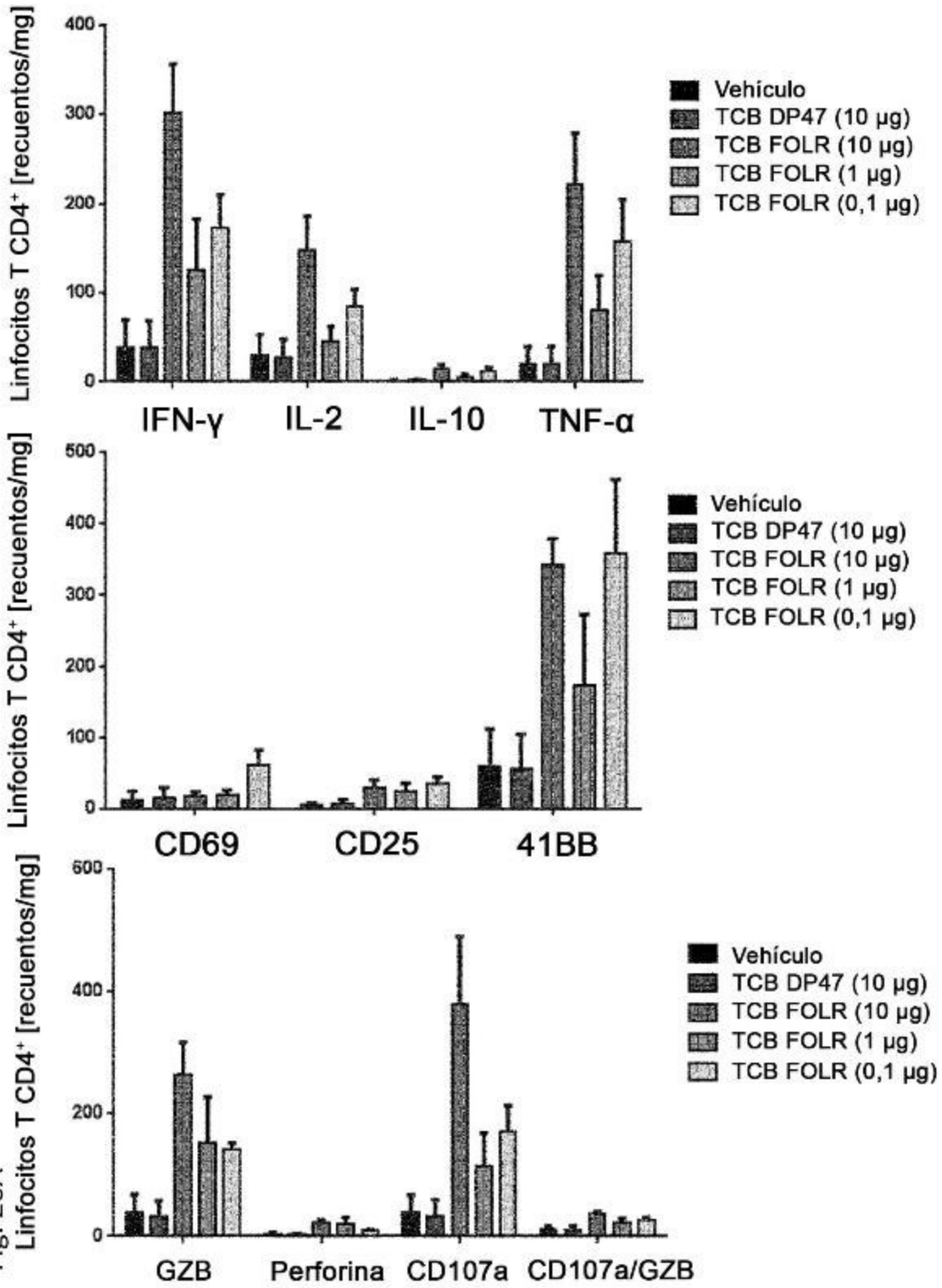

Linfocitos T CD4+ [recuentos/mg]
400
300
200
100
0
IFN-γ
IL-2
IL-10
TNF-α
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)
Linfocitos T CD4+ [recuentos/mg]
500
400
300
200
100
0
CD69
CD25
41BB
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)
Linfocitos T CD4+ [recuentos/mg]
600
400
200
0
GZB
Perforina
CD107a
CD107a/GZB
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)

Fig. 20A

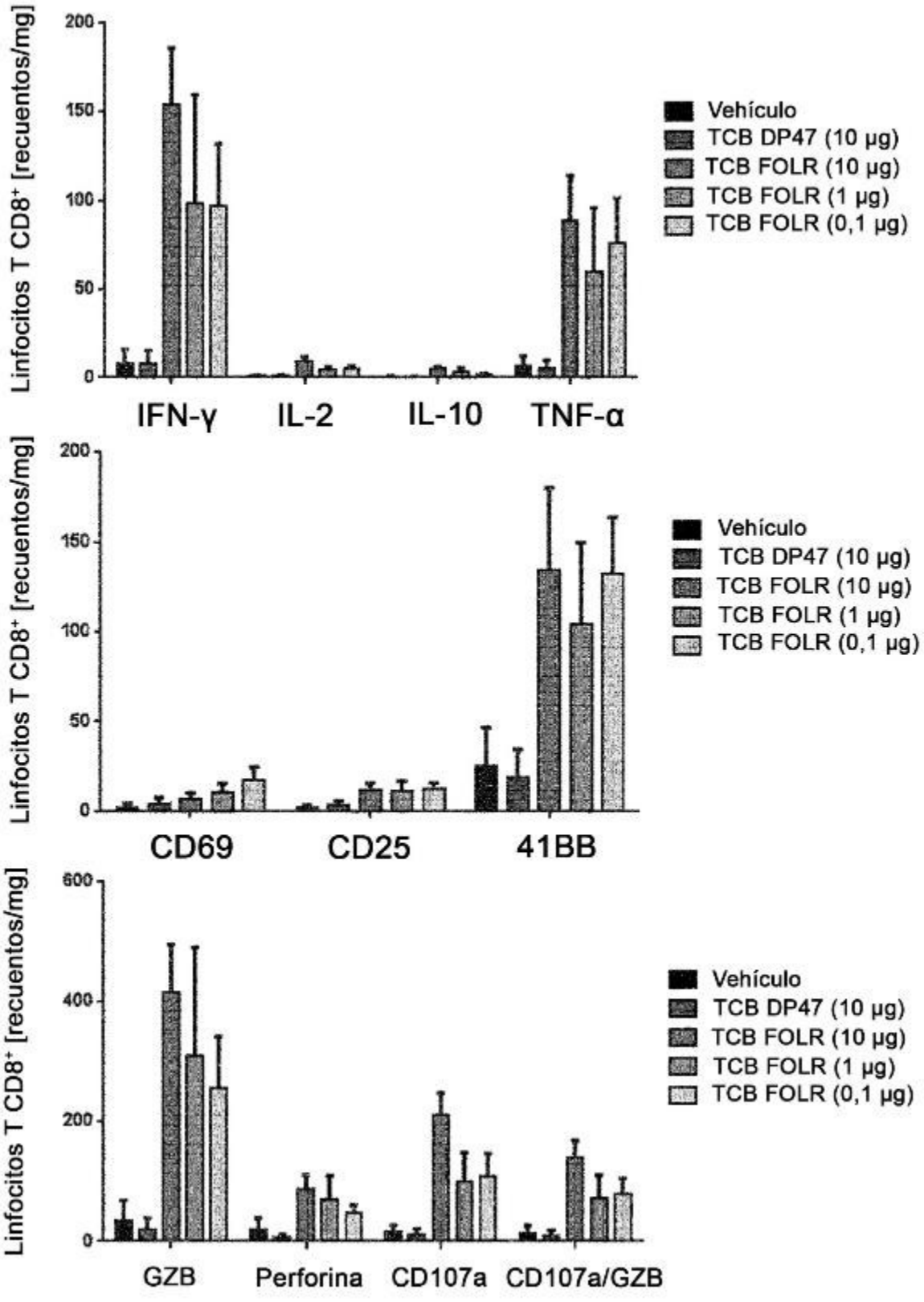

Linfocitos T CD8+ [recuentos/mg]
200
150
100
50
0
IFN-γ
IL-2
IL-10
TNF-α
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)
Linfocitos T CD8+ [recuentos/mg]
200
150
100
50
0
CD69
CD25
41BB
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)
Linfocitos T CD8+ [recuentos/mg]
600
400
200
0
GZB
Perforina
CD107a
CD107a/GZB
Vehículo
TCB DP47 (10 µg)
TCB FOLR (10 µg)
TCB FOLR (1 µg)
TCB FOLR (0,1 µg)

Fig. 20B

Fig. 21A

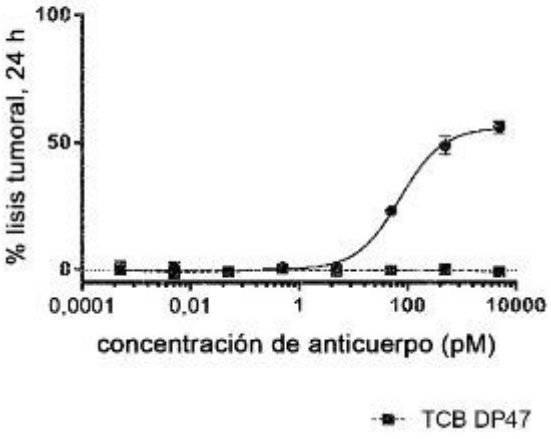
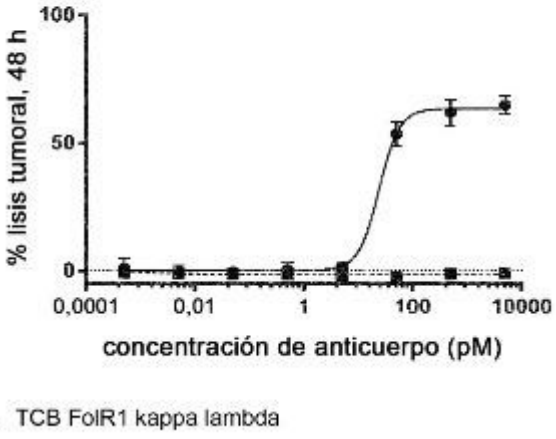


Fig. 21B



TCB DP47 TCB FolR1 kappa lambda

Fig. 22A

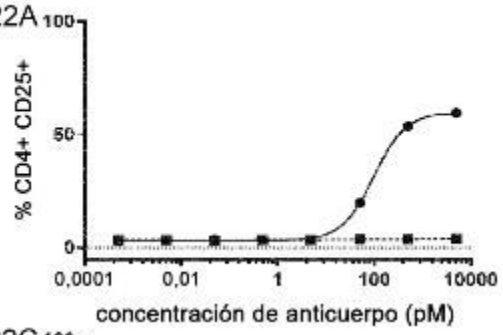


Fig. 22B

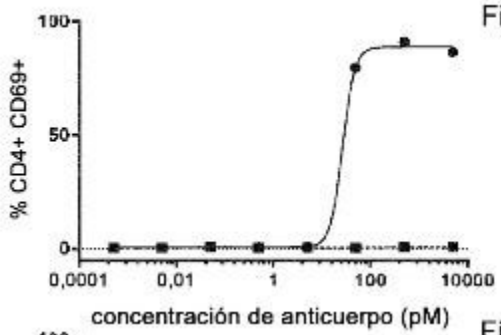


Fig. 22C

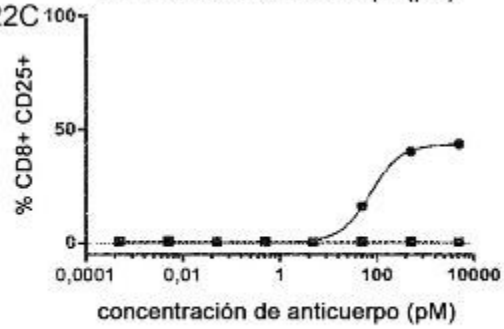
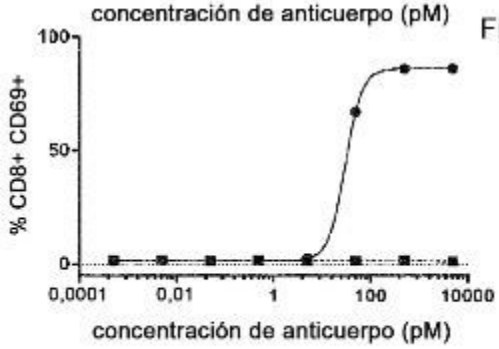


Fig. 22D



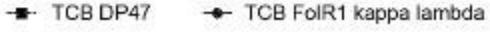


Fig. 23A

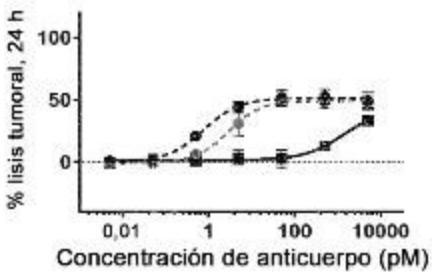


Fig. 23B

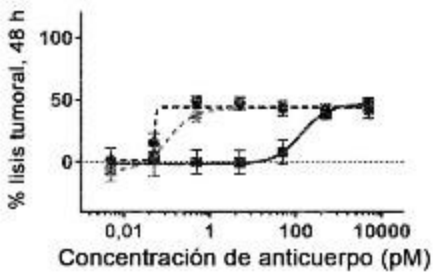


Fig. 24A

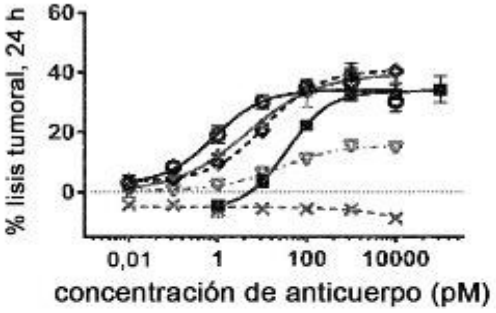


Fig. 24B

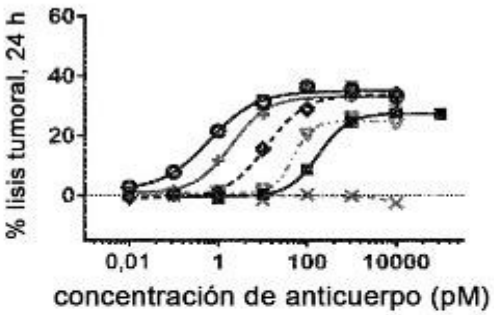


Fig. 24C

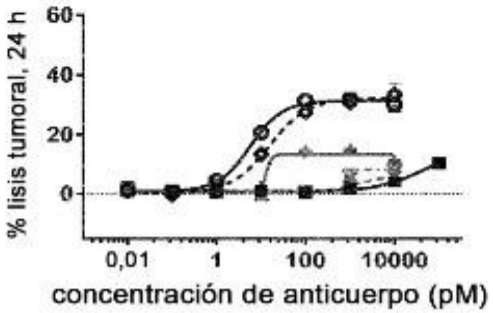




Fig. 25A

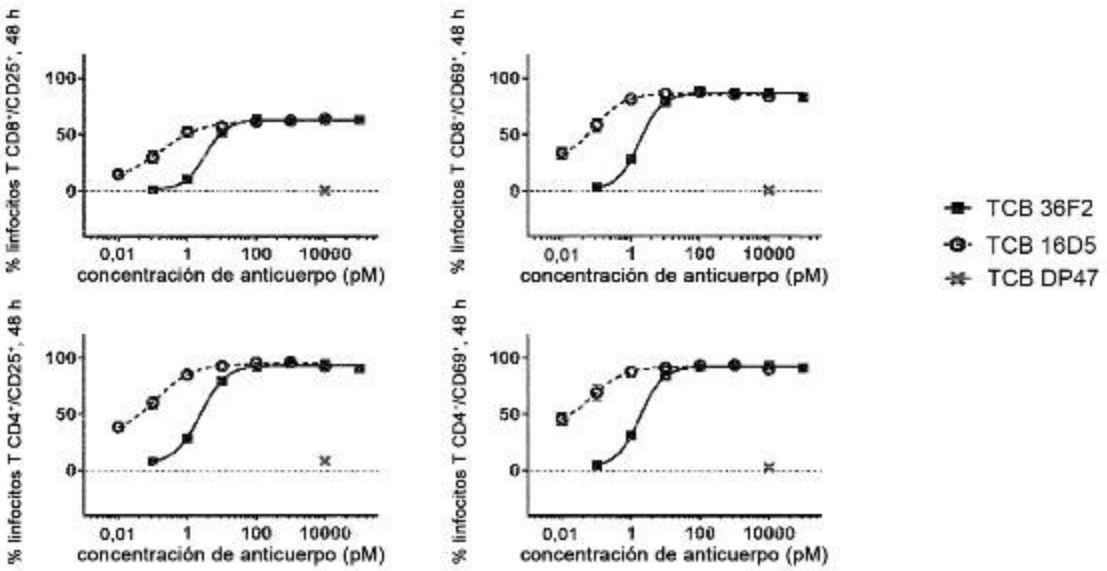

% linfocitos T CD8+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD8+/CD69+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD69+, 48 h
100
50
0
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB 36F2
TCB 16D5
TCB DP47

Fig. 25B

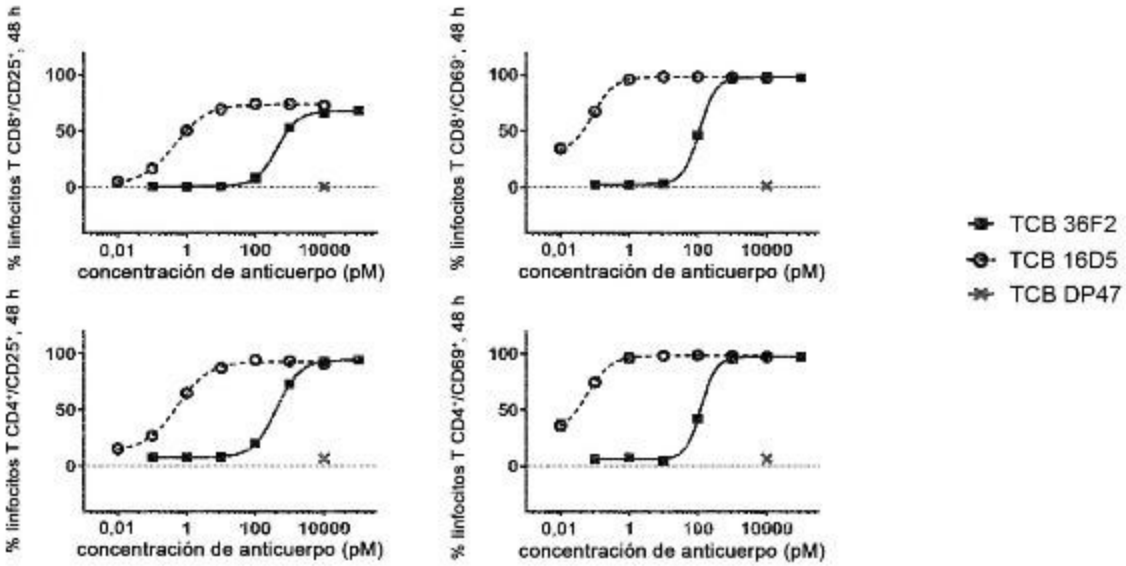

% linfocitos T CD8+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD8+/CD69+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD69+, 48 h
100
50
0
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB 36F2
TCB 16D5
TCB DP47

Fig. 25C

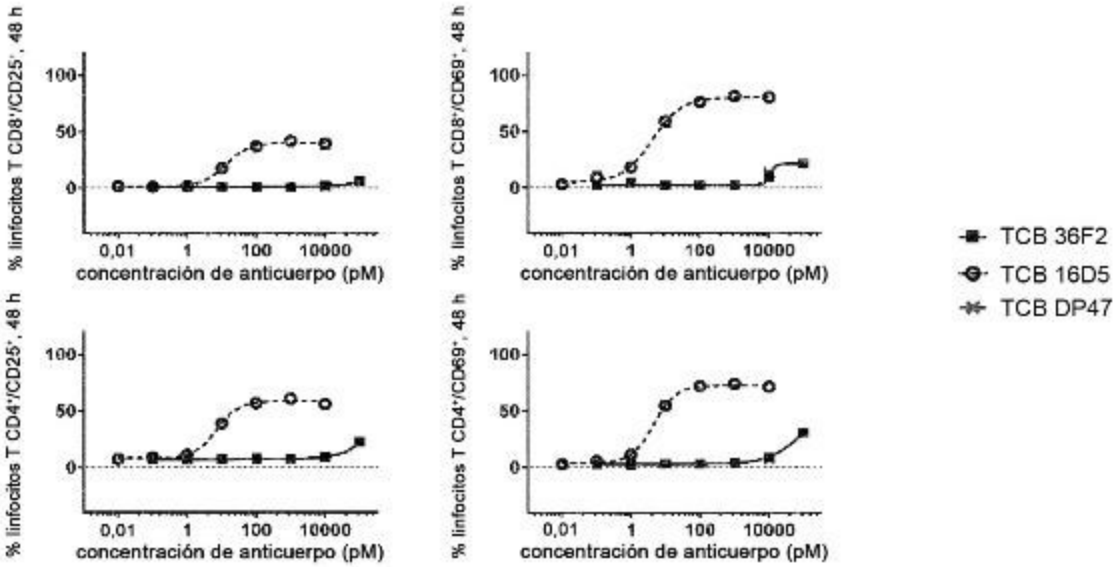

% linfocitos T CD8+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD8+/CD69+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD25+, 48 h
% linfocitos T CD4+/CD69+, 48 h
100
50
0
0,01
1
100
10000
concentración de anticuerpo (pM)
TCB 36F2
TCB 16D5
TCB DP47

Fig. 26A

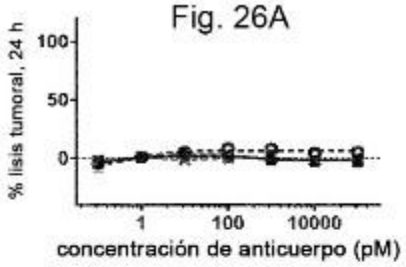


Fig. 26B

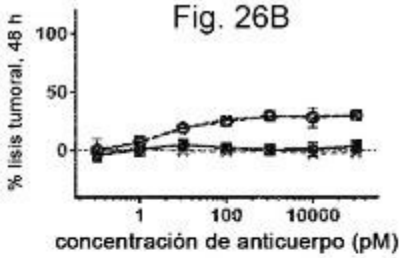


Fig. 26C

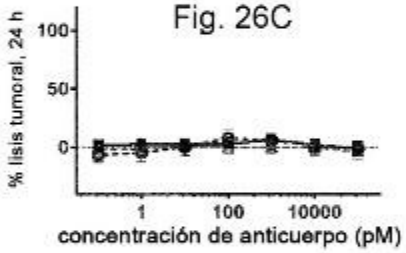


Fig. 26D

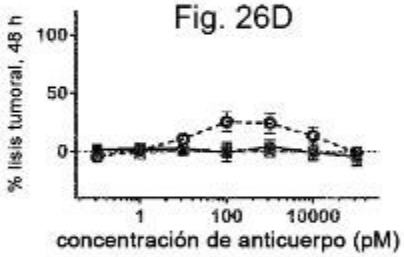


Fig. 26E

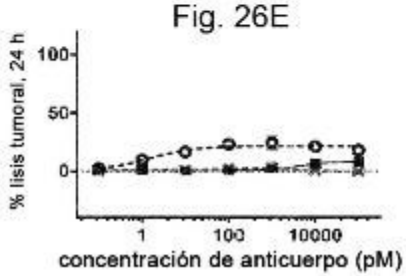
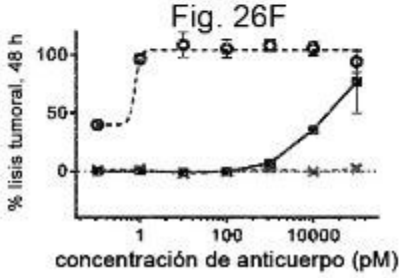


Fig. 26F



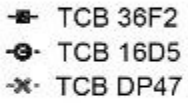


Fig. 27

Línea celular	Sitios de unión	Línea celular	Sitios de unión
HeLa	2.240.716	Epitelio bronquial	492
Skov3	91.510	Epitelio del plexo coroideo	104
OVCAR5	22.077	Epitelio cortical renal	312
HT29	10.135	Epitelio del pigmento retiniano	822
MKN45	54	Skov3	69.890

Fig. 28A

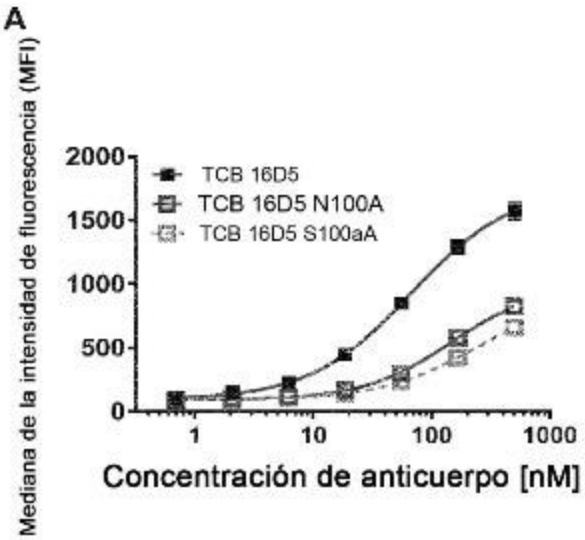


Fig. 28B

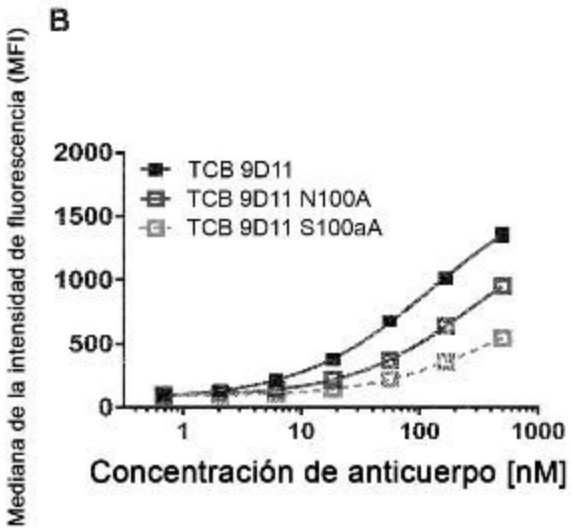


Fig. 29A

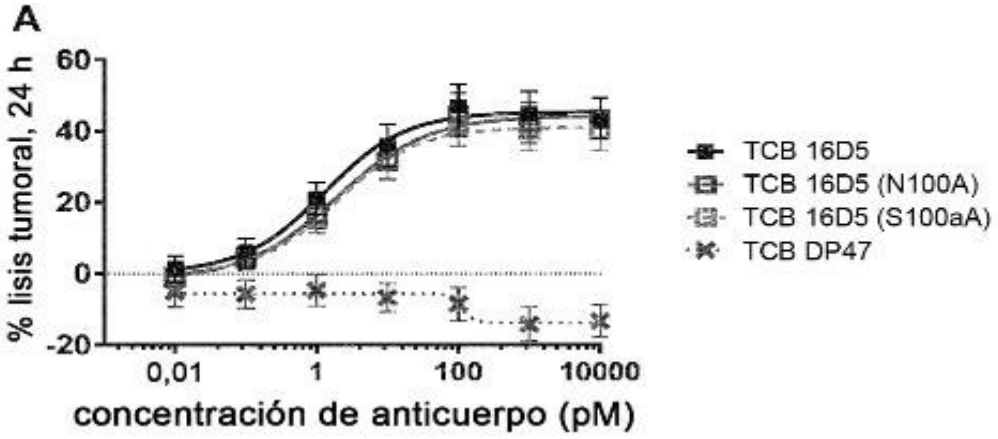
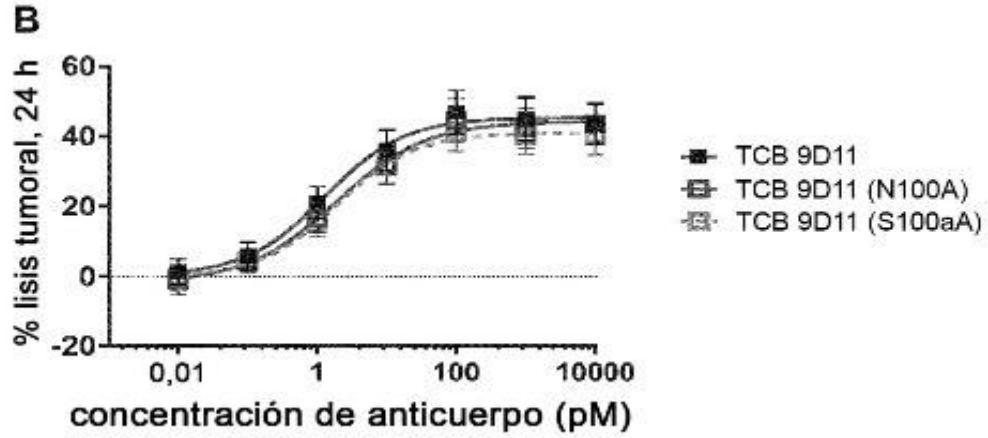
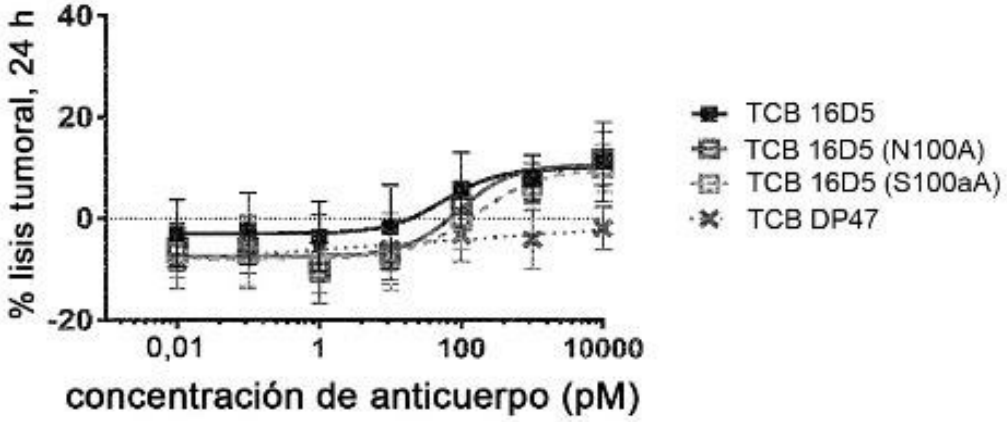


Fig. 29B



A

Fig. 30A



B

Fig. 30B

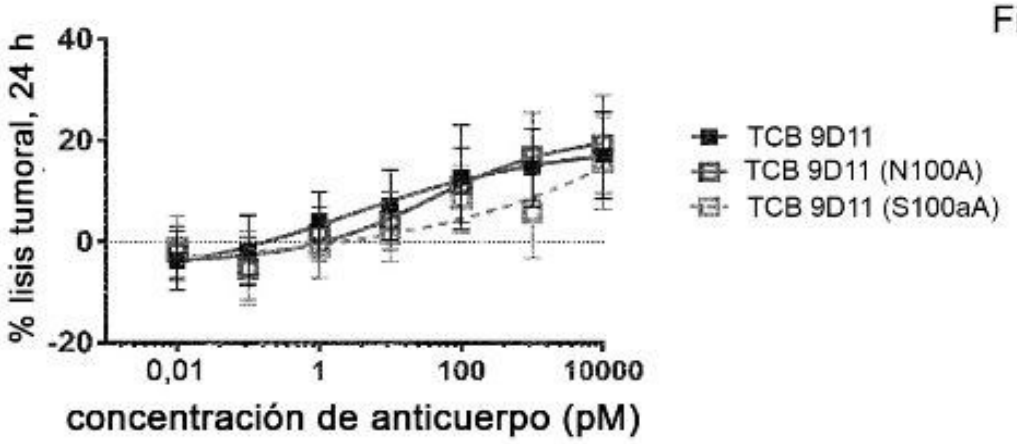
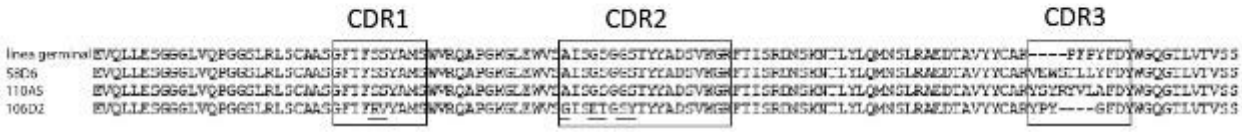


Fig. 31


CDR1
CDR2
CDR3
lines germinal EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK----FYFYFDYWGQGTLVTVSS
5BD6 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTYSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVEWSTLLYFDYWGQGTLVTVSS
110A5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYGYRTVLAFDYWGQGTLVTVSS
106D2 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRVYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISETGSYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPY----GFDYWGQGTLVTVSS

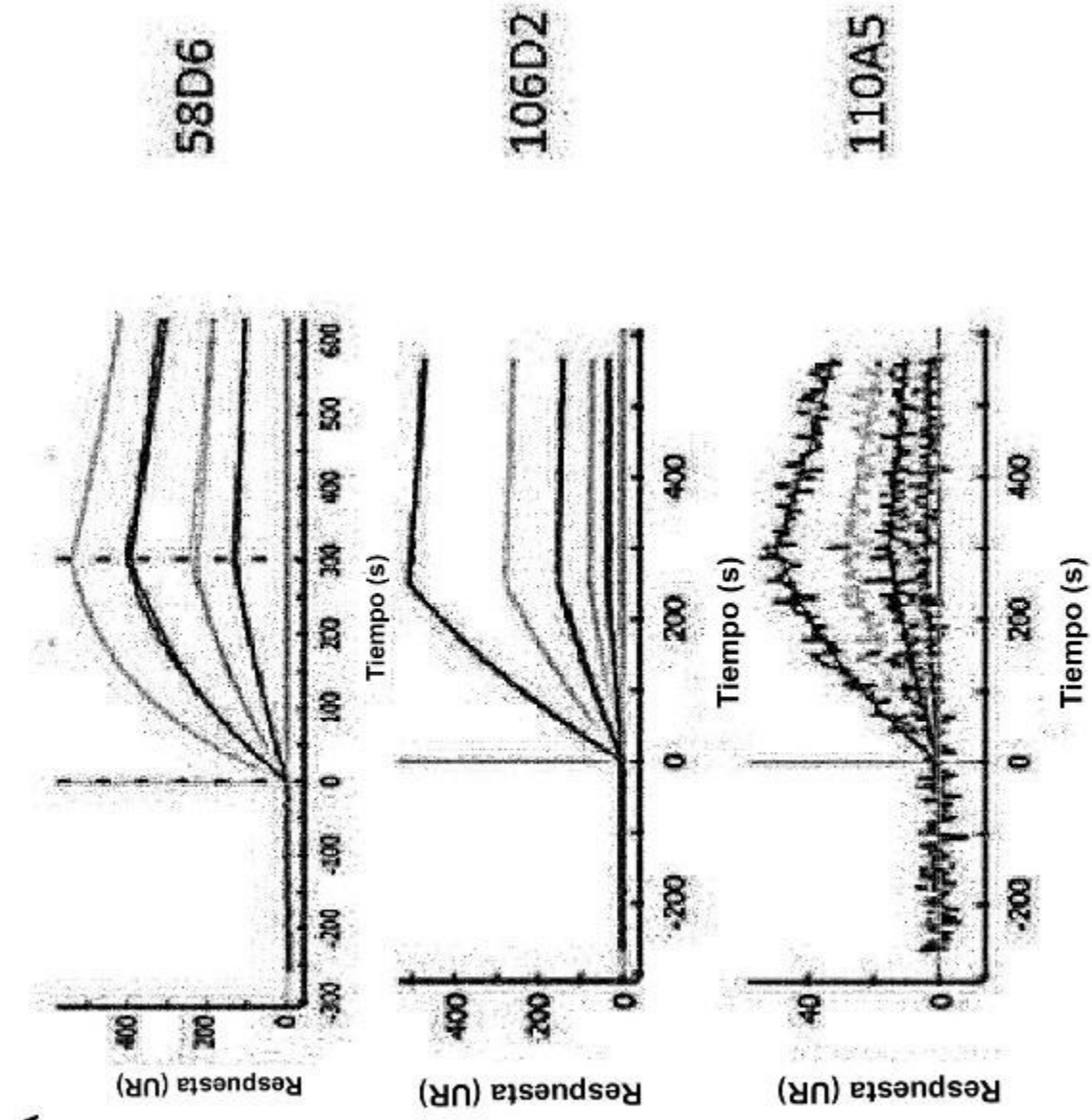


Fig. 32A

Fig. 32B

Clon	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)
58D6	3,40E+04	7,98E-4	2,35E-8
106D2	0,98E+04	2,95E-4	3,00E-8
110A5	1,22E+04	16,4E-4	13,4E-8

Fig. 33

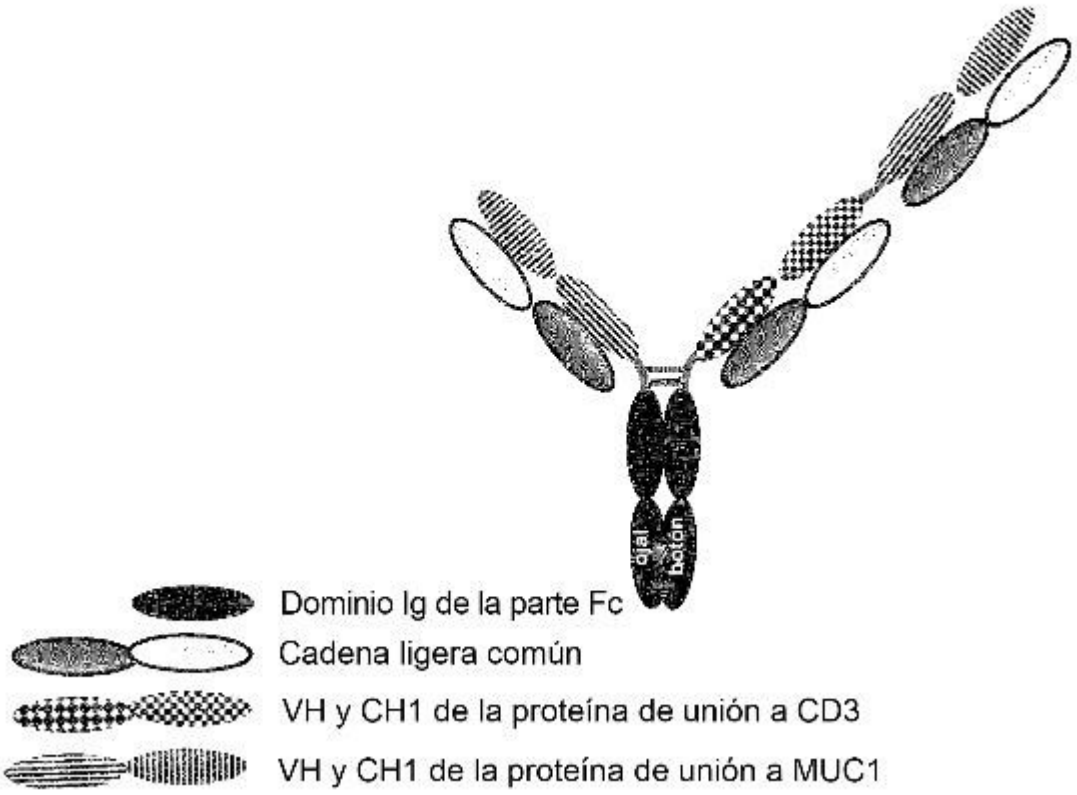

ojal
botón
Dominio Ig de la parte Fc
Cadena ligera común
VH y CH1 de la proteína de unión a CD3
VH y CH1 de la proteína de unión a MUC1

Fig. 34A SEC analítica

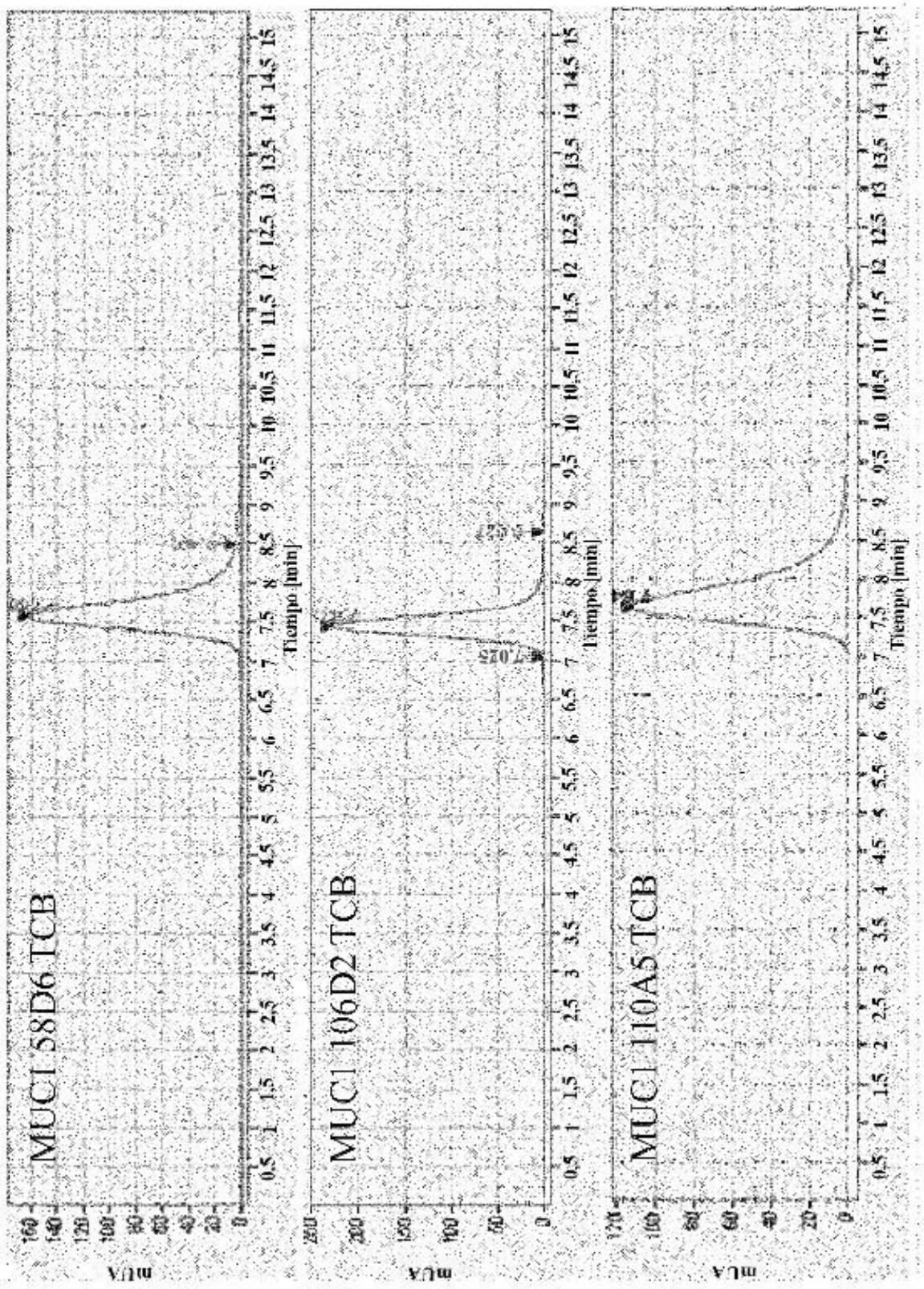


Fig. 34B

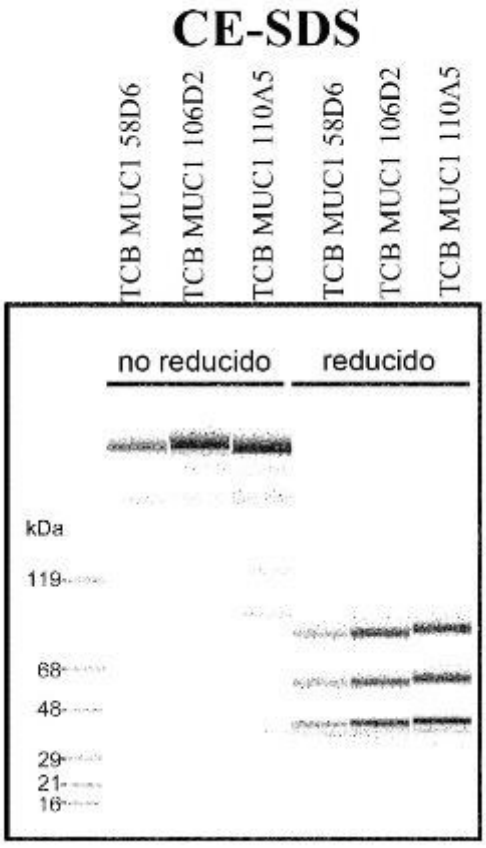

CE-SDS
TCB MUC1 58D6
TCB MUC1 106D2
TCB MUC1 110Δ5
TCB MUC1 58D6
TCB MUC1 106D2
TCB MUC1 110Δ5
no reducido
reducido
kDa
119
68
48
29
21
16

Fig. 35

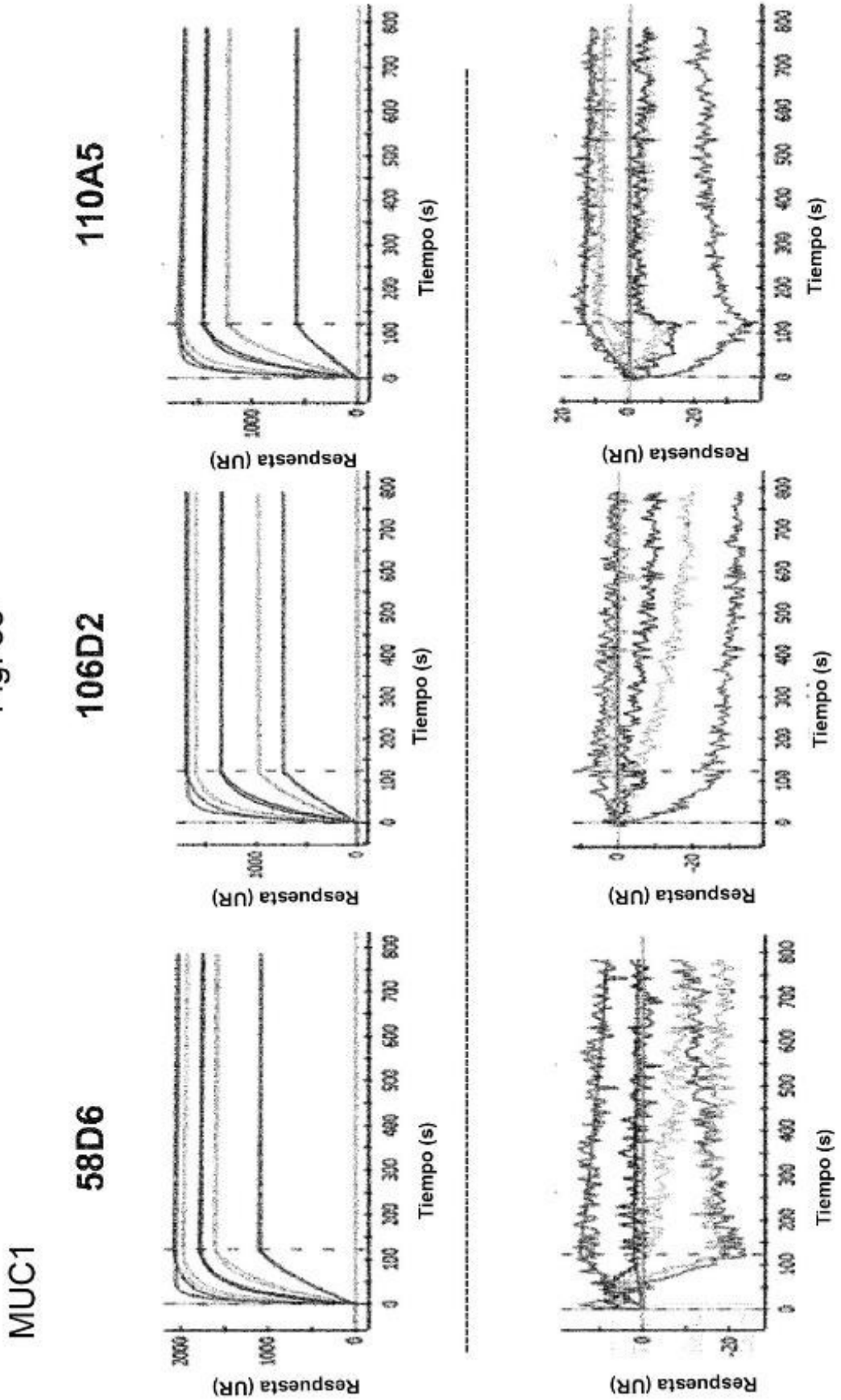

MUC1
58D6
106D2
110A5
Respuesta (UR)
Tiempo (s)
antígeno no relacionado

Fig. 36A

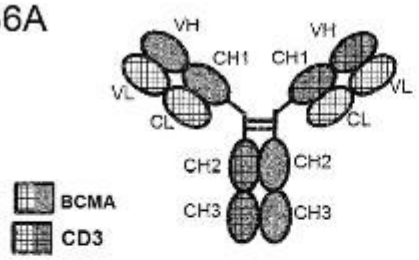


Fig. 36B

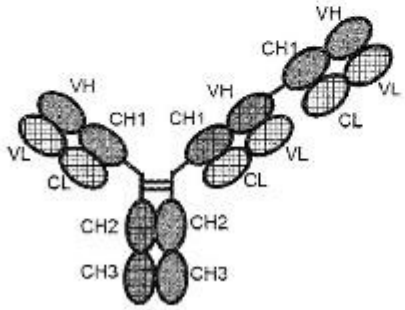


Fig. 36C

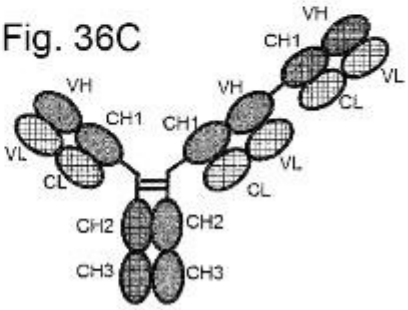


Fig. 36D

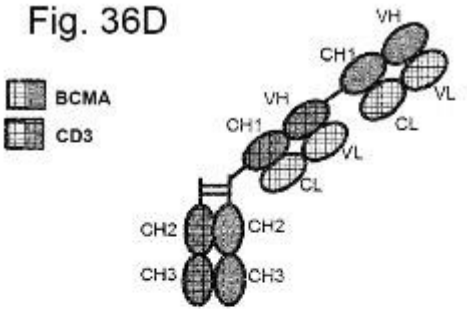


Fig. 36E

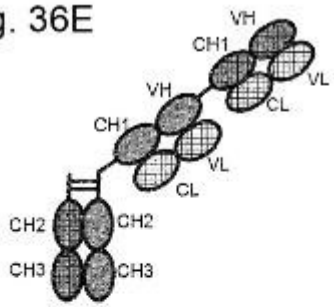


Fig. 36F

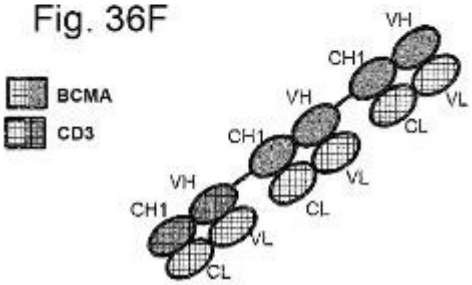


Fig. 36G

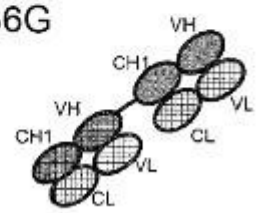


Fig. 37

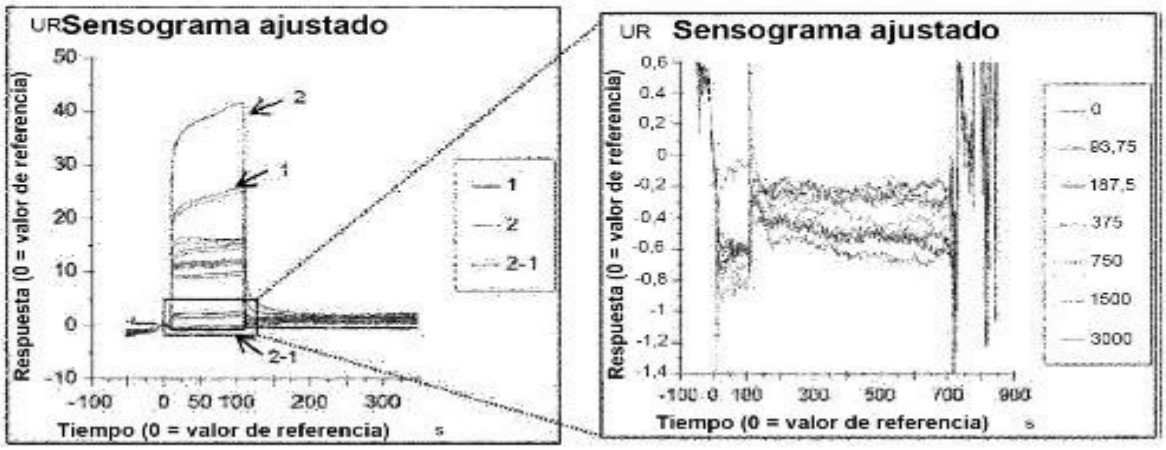

URSensograma ajustado
Respuesta (0 = valor de referencia)
Tiempo (0 = valor de referencia) s
1
2
2-1
UR Sensograma ajustado
Respuesta (0 = valor de referencia)
Tiempo (0 = valor de referencia) s
0
93,75
187,5
375
750
1500
3000

Fig. 38A

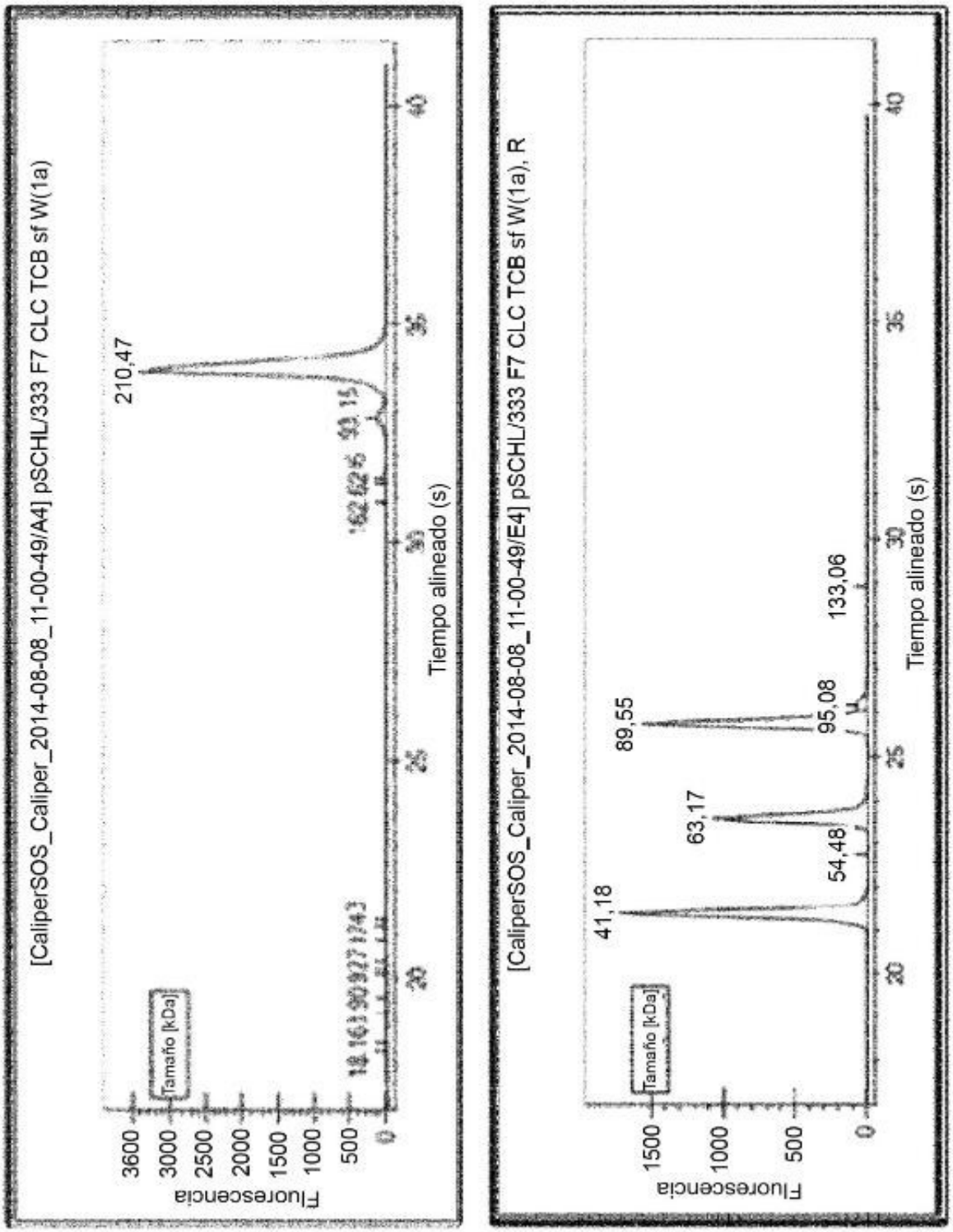

[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/A4] pSCHL/333 F7 CLC TCB sf W(1a)
Fluorescencia
Tamaño [kDa]
210,47
Tiempo alineado (s)
[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/E4] pSCHL/333 F7 CLC TCB sf W(1a), R
41,18
54,48
63,17
89,55
95,08
133,06

Fig. 38B

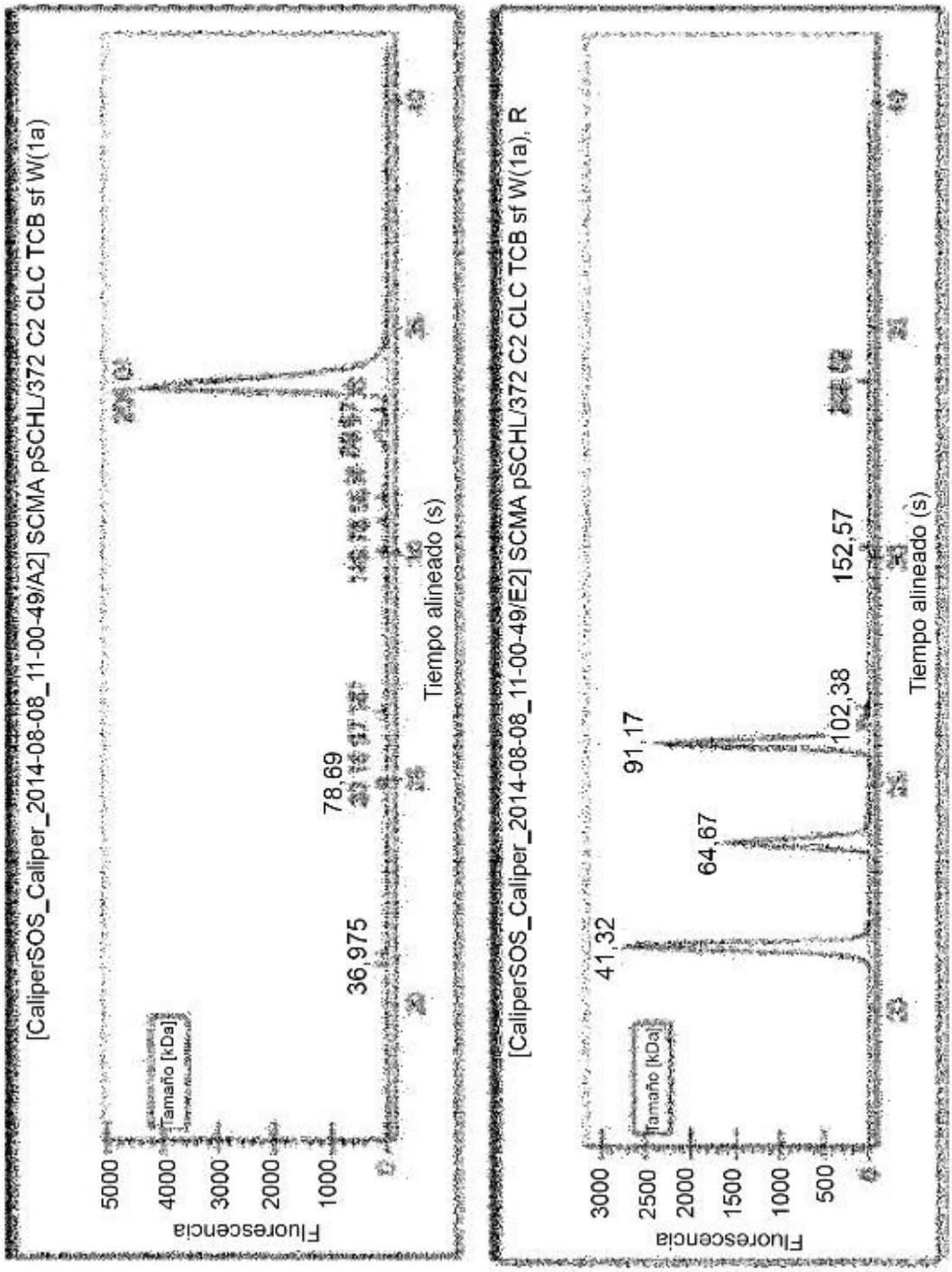

[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/A2] SCMA pSCHL/372 C2 CLC TCB sf W(1a)
Fluorescencia
Tamaño [kDa]
Tiempo alineado (s)
36,975
78,69
[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/E2] SCMA pSCHL/372 C2 CLC TCB sf W(1a), R
41,32
64,67
91,17
102,38
152,57

Fig. 38C

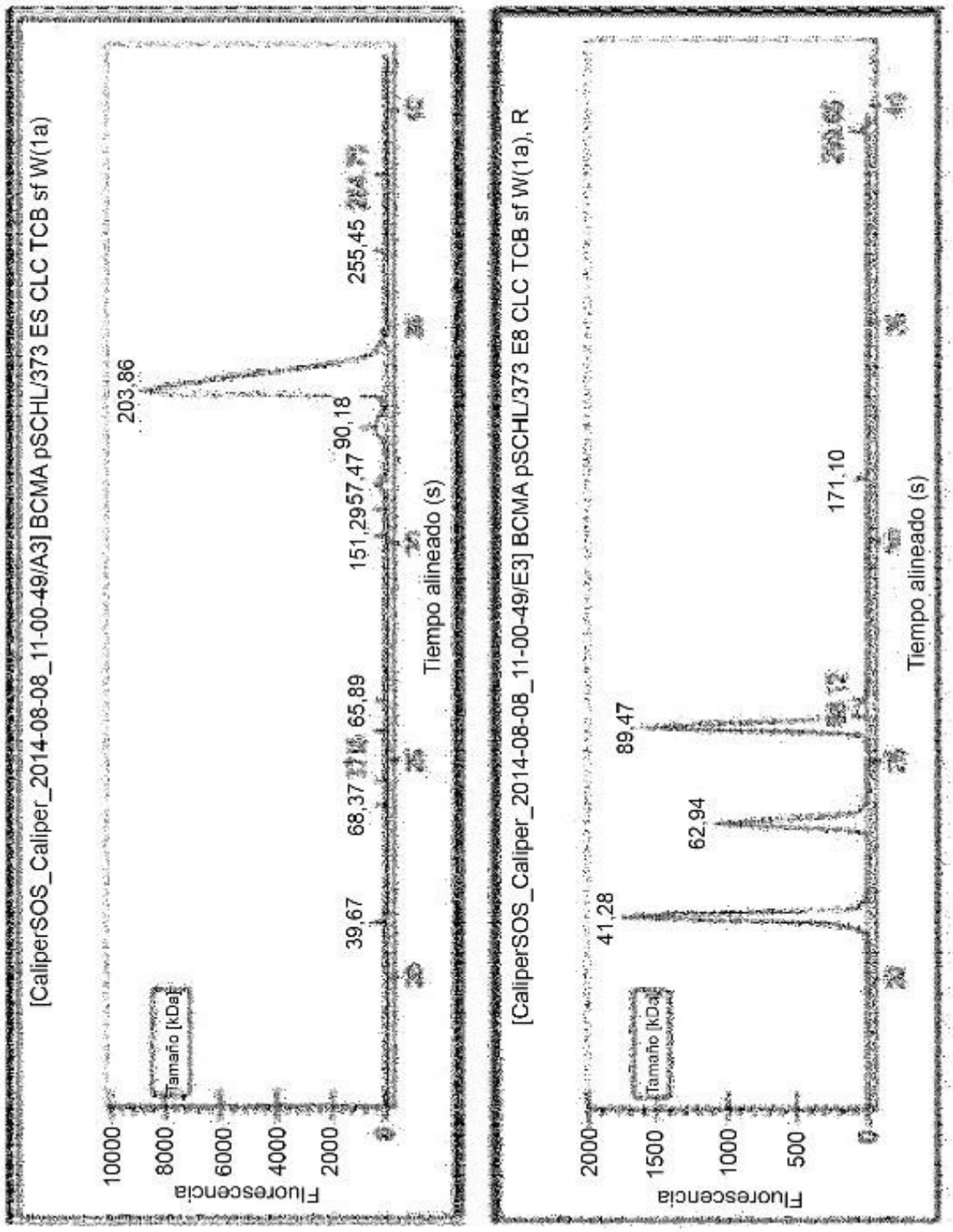

[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/A3] BCMA pSCHL/373 ES CLC TCB sf W(1a)
Fluorescencia
Tamaño [kDa]
Tiempo alineado (s)
203,86
255,45
90,18
151,29
57,47
39,67
68,37
65,89
[CaliperSOS_Caliper_2014-08-08_11-00-49/E3] BCMA pSCHL/373 E8 CLC TCB sf W(1a), R
41,28
62,94
89,47
171,10

Fig. 39A
células H929

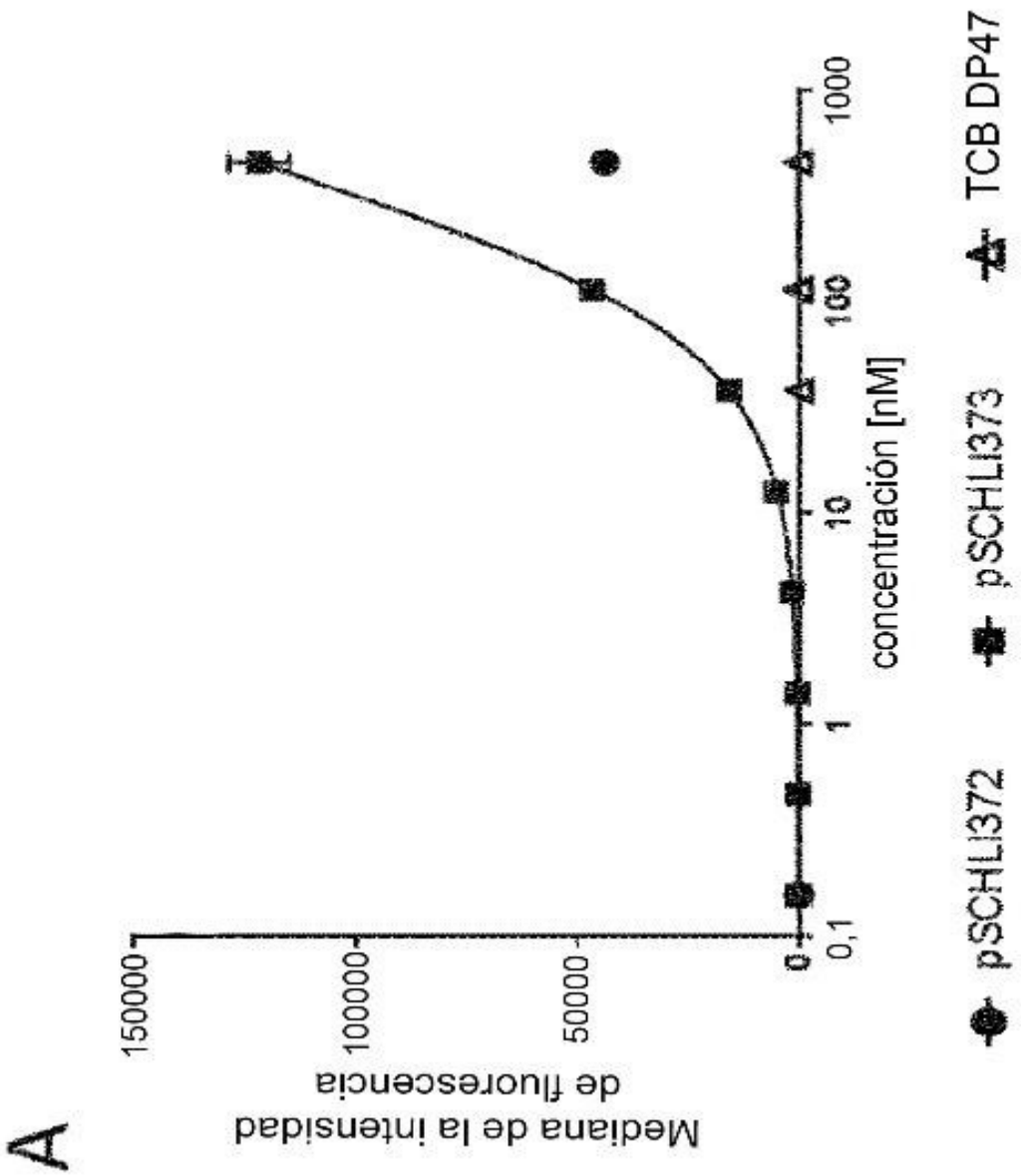


Fig. 39B
células MKN45

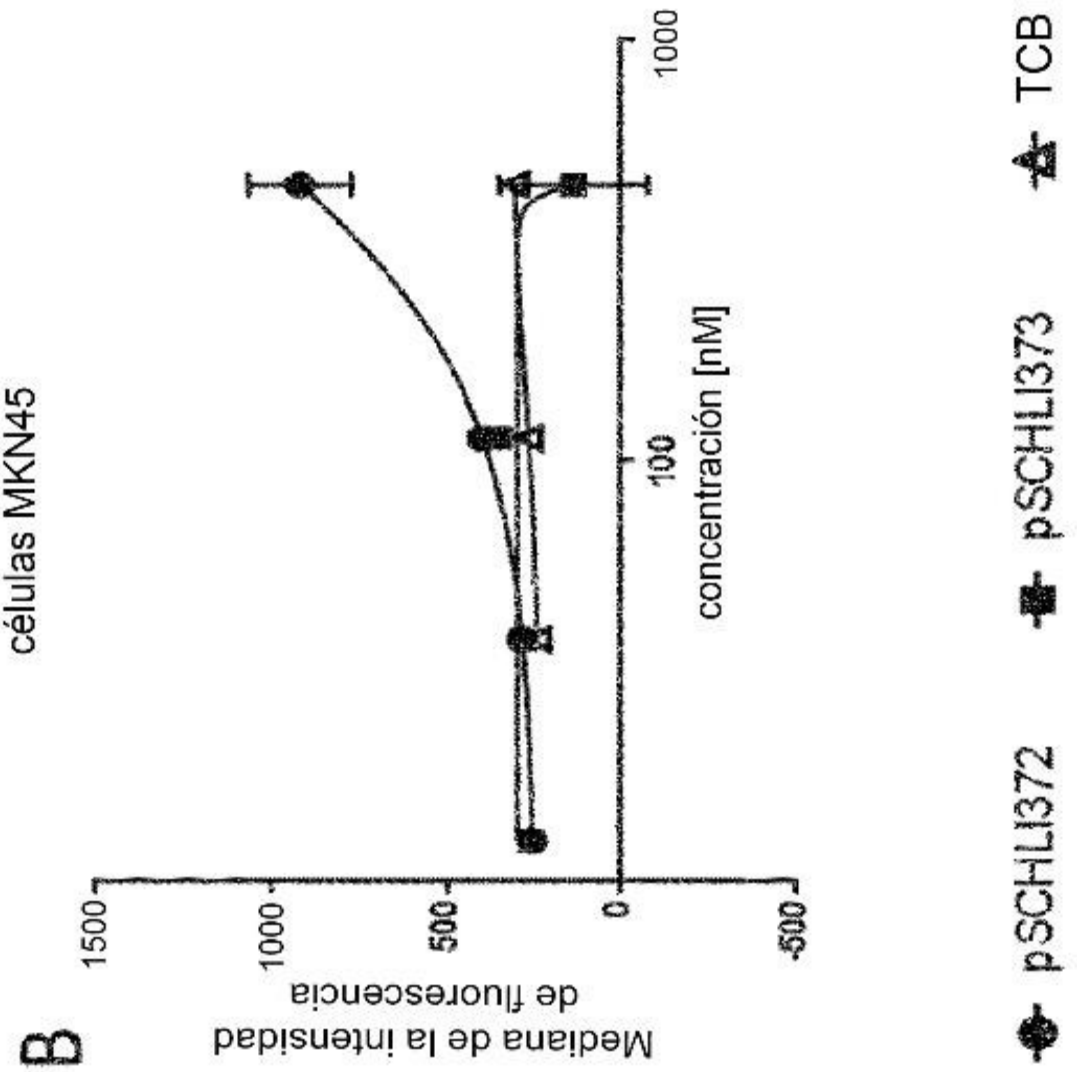


Fig. 40A

células Jurkat

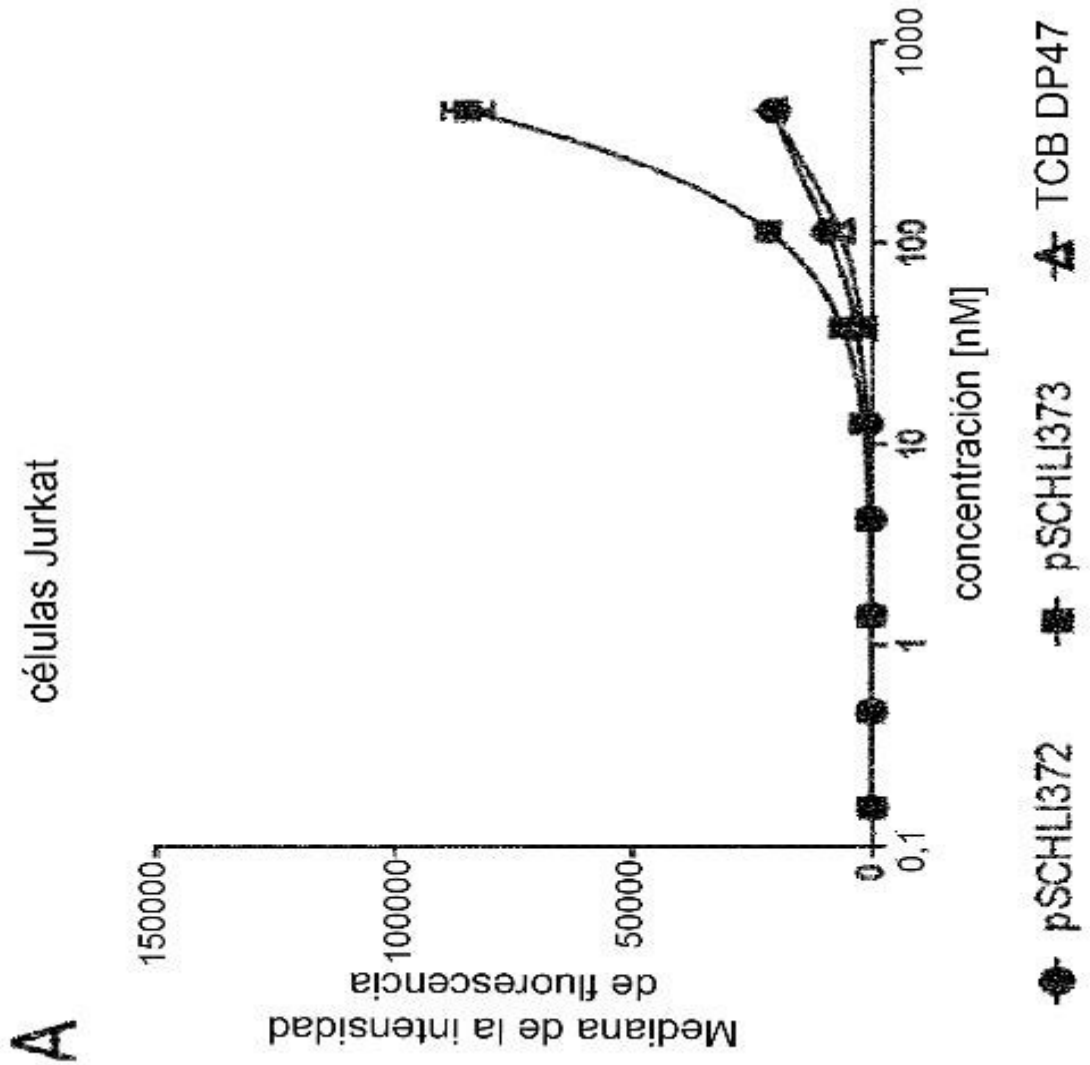


Fig. 40B

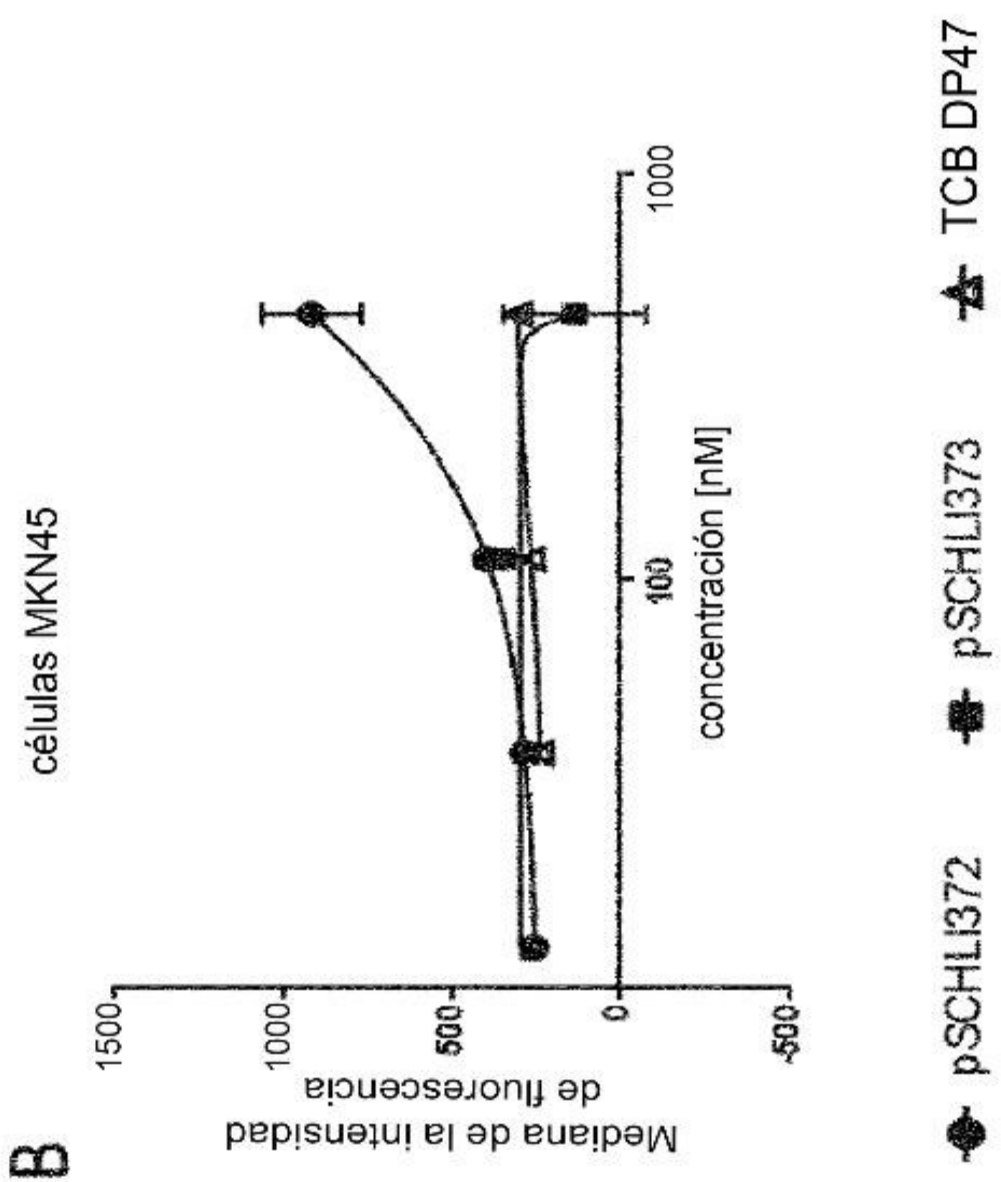

B
células MKN45
Mediana de la intensidad de fluorescencia
1500
1000
500
0
-500
10
100
1000
concentración [nM]
pSCHLI372
pSCHLI373
TCB DP47

Fig. 41

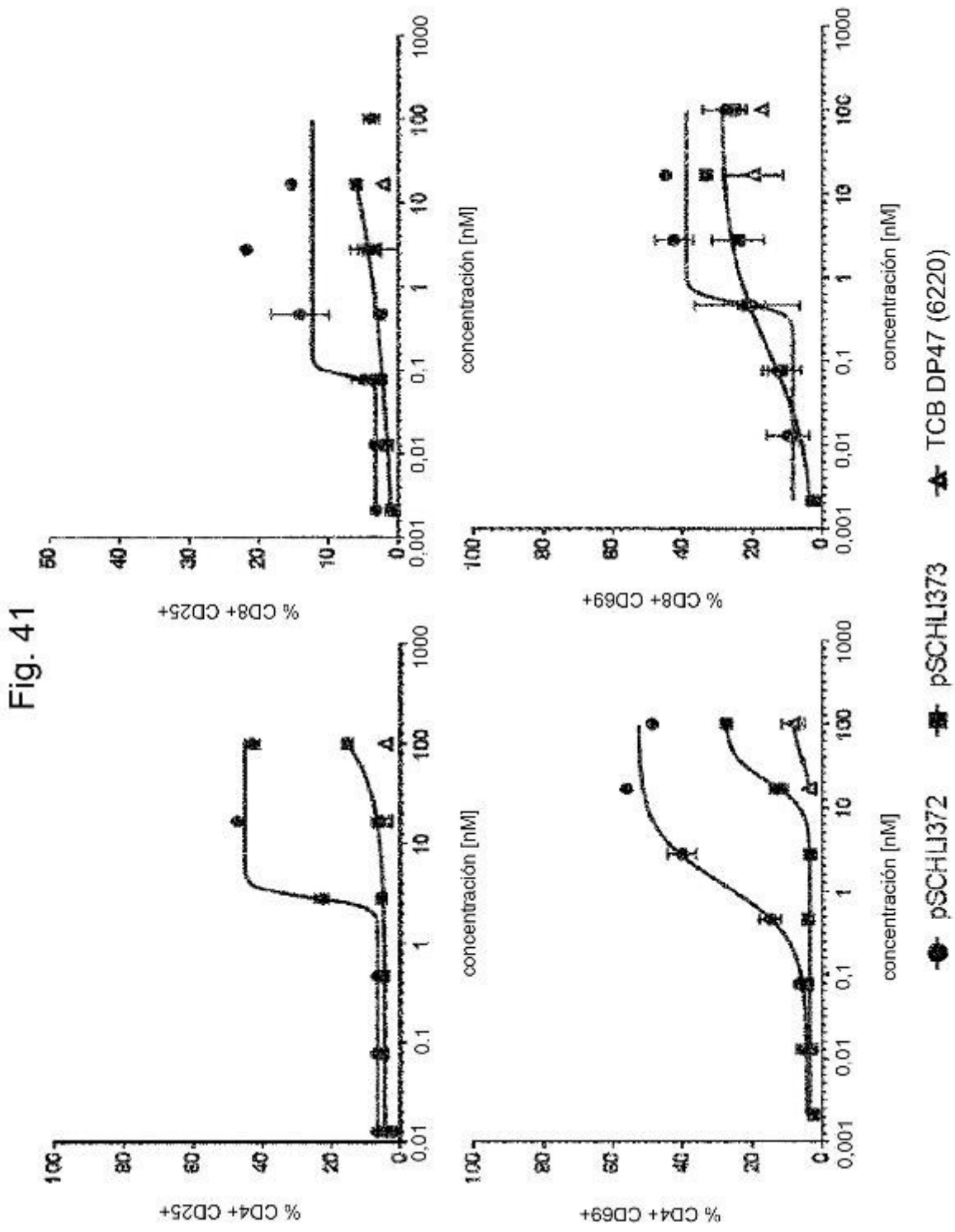
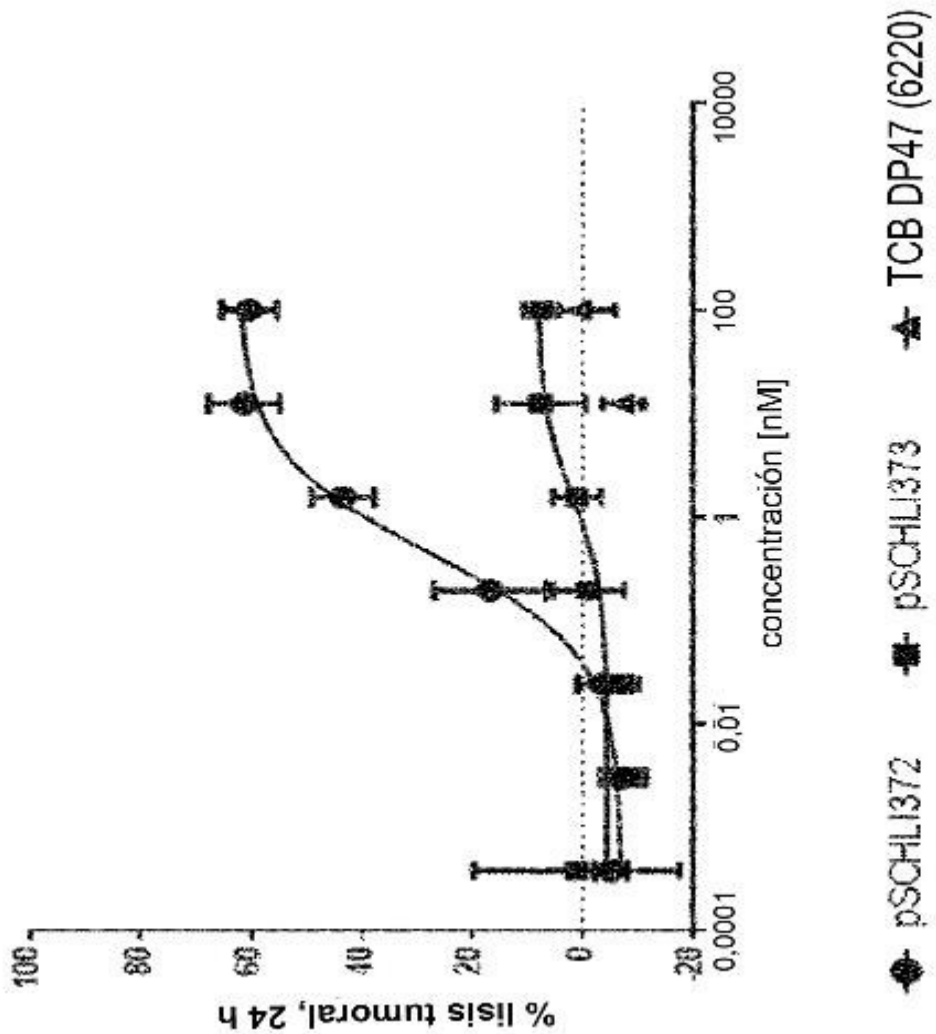

% CD8+ CD25+
% CD8+ CD69+
% CD4+ CD25+
% CD4+ CD69+
concentración [nM]
pSCHL1372
pSCHL1373
TCB DP47 (6220)

Fig. 42A


% lisis tumoral, 24 h
100
80
60
40
20
0
-20
0,0001
0,01
1
100
10000
concentración [nM]
pSCHL1372
pSCHL1373
TCB DP47 (6220)

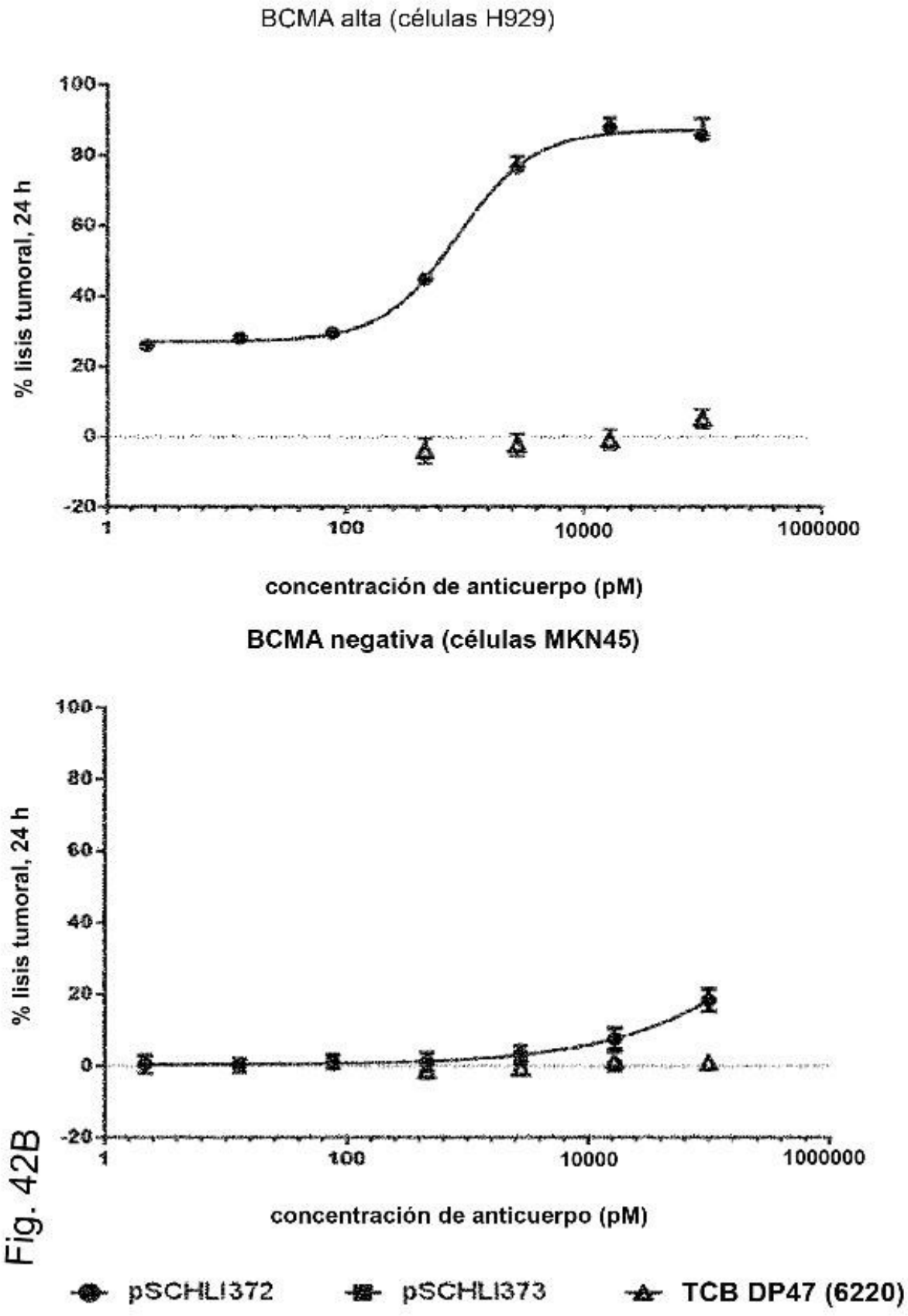

BCMA alta (células H929)
% lisis tumoral, 24 h
100
80
60
40
20
0
-20
1
100
10000
1000000
concentración de anticuerpo (pM)
BCMA negativa (células MKN45)
% lisis tumoral, 24 h
100
80
60
40
20
0
-20
1
100
10000
1000000
concentración de anticuerpo (pM)
pSCHLI372
pSCHLI373
TCB DP47 (6220)

Fig. 42B

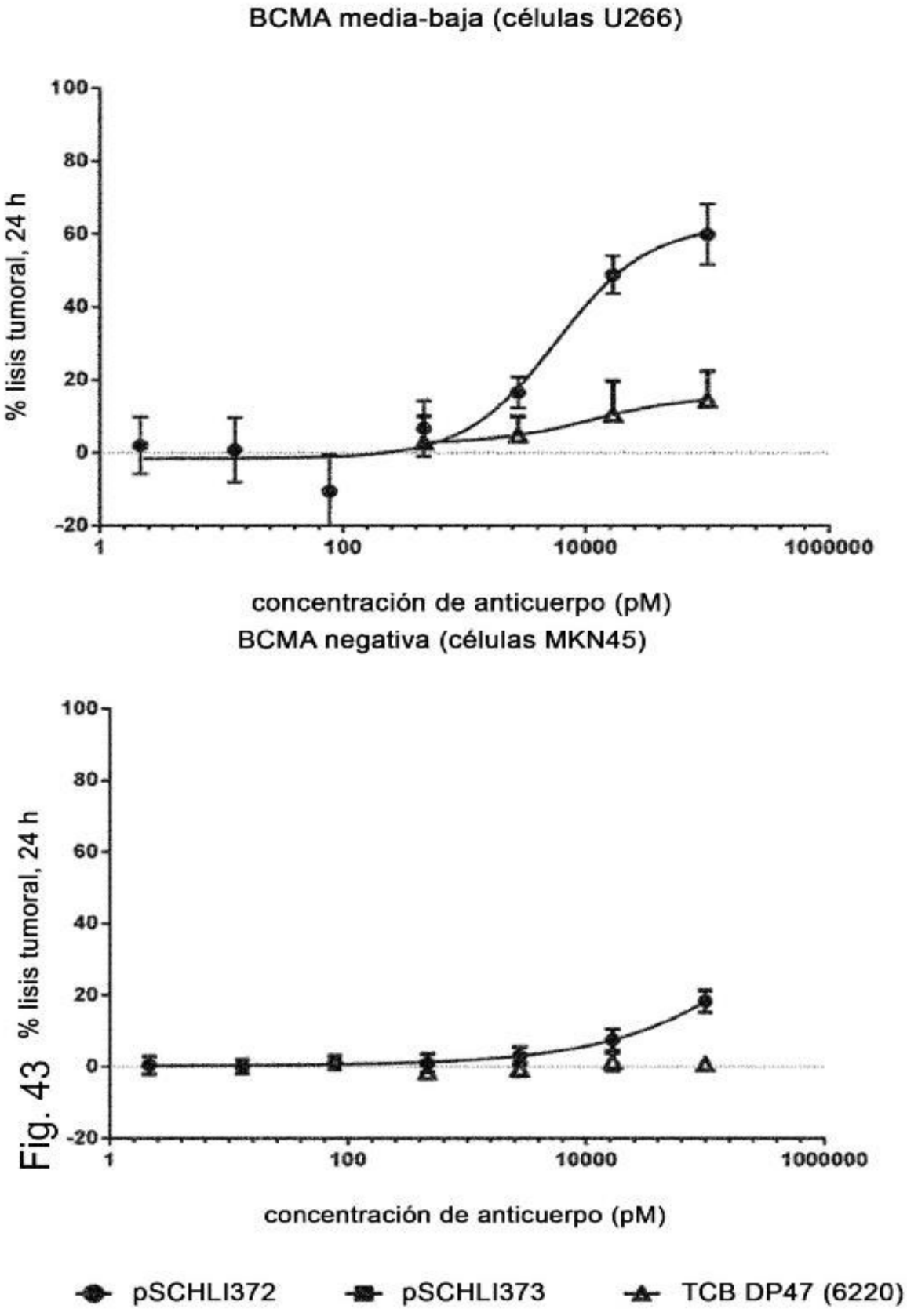

BCMA media-baja (células U266)
% lisis tumoral, 24 h
100
80
60
40
20
0
-20
1
100
10000
1000000
concentración de anticuerpo (pM)
BCMA negativa (células MKN45)
% lisis tumoral, 24 h
100
80
60
40
20
0
-20
1
100
10000
1000000
concentración de anticuerpo (pM)
pSCHLI372
pSCHLI373
TCB DP47 (6220)

Fig. 43