

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 856**

51 Int. Cl.:

G01N 33/566 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.06.2016 PCT/US2016/035514**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2016 WO16196792**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2016 E 16731700 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3304079**

54 Título: **Anticuerpos ANTI-GITR para diagnóstico de cáncer**

30 Prioridad:

03.06.2015 US 201562170579 P

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

09.03.2021

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**WANG, XI-TAO;
ADELAKUN, OLUFEMI, A.;
LEWIN, ANNE, C.;
KORMAN, ALAN, J.;
SELBY, MARK, J.;
WANG, CHANGYU;
HUANG, HAICHUN;
HENNING, KARLA, A.;
LONBERG, NILS;
SRINIVASAN, MOHAN;
HAN, MICHELLE, MINHUA;
CHEN, GUODONG;
HUANG, RICHARD;
CHAKRABORTY, INDRANI;
WONG, SUSAN, CHIEN-SZU y
LI, HUIMING**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 810 856 T3

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

Anticuerpos ANTI-GITR para diagnóstico de cáncer

5 Antecedentes

El receptor de TNF inducible por glucocorticoides (GITR, por sus siglas en inglés) es una glucoproteína transmembrana de superficie celular de tipo I coestimuladora de linfocitos T expresada por linfocitos T efectores (Teff) activados y a niveles bajos en linfocitos B, eosinófilos, basófilos y macrófagos (Nocentini et al., Adv Exp Med Biol 2009; 647:156-73). GITR se expresa de manera constitutiva en linfocitos T reguladores (Treg). La señalización a través de GITR potencia la activación del receptor de linfocitos T de los linfocitos T y hace que los linfocitos Teff sean resistentes a la supresión mediada por Treg (Stephens et al., J Immunol 2004; 173:5008-20). Se describe la determinación de la expresión de GITR en tejido tumoral o diversas líneas de células tumorales usando inmunohistoquímica, citometría de flujo o análisis FACS (Padovani et al., Rev Soc Bras Med Trop 2013;46(3):288-292; Baltz, et al., The Faseb Journal 2007;21(10):2442-2454; Chang et al., Cancer 2010;116(24):5777-5788; Gasparoto et al., Cancer Immunol Immunother 2009;59(6):819-828). Las proteínas de unión a antígeno contra GITR y sus usos, p. ej., en el tratamiento de cáncer, se describen en los documentos WO 2015/031667, WO 2015/187835 y WO 2006/078911. Determinar la positividad de GITR en el tejido tumoral puede brindar una oportunidad para dirigirse a los pacientes que tienen más probabilidades de beneficiarse (es decir, responder a) la inmunoterapia anti-GITR, así como para monitorizar el estado de los tumores GITR positivos y la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR.

Sumario

En el presente documento se proporcionan anticuerpos de diagnóstico anti-GITR y métodos para detectar la expresión de la proteína GITR en muestras biológicas, tales como muestras de tejido tumoral. Tales métodos pueden ser útiles para, p. ej., identificar pacientes con cáncer que puedan responder a la inmunoterapia anti-GITR y monitorizar el estado de los tumores GITR positivos y la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR.

Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona métodos para determinar el nivel de expresión del receptor de TNF inducible por glucocorticoides (GITR) en linfocitos infiltrantes de tumores (TIL, por sus siglas en inglés) y/o en células tumorales en una muestra de tejido, que comprende

- (a) poner en contacto una muestra de tejido de un paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se une a GITR humano,
- (b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en TIL y células tumorales de la muestra de tejido mediante inmunohistoquímica; y, opcionalmente,
- (c) teñir la muestra de tejido con marcadores de TIL y/o células tumorales y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los TIL y/o las células tumorales que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

En una realización de la presente invención, los TIL son linfocitos T reguladores.

En otra realización de la presente invención, la muestra de tejido es una muestra de tejido tumoral humano.

En una realización adicional de la presente invención, el método se usa para identificar a un paciente con cáncer que probablemente responda a una inmunoterapia anti-GITR, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral en la muestra de tejido tumoral humano indica que el tumor es un tumor GITR positivo y que es probable que o se predice que el paciente responda a la inmunoterapia anti-GITR.

En el presente documento se divulgan adicionalmente métodos para detectar GITR humano en una muestra biológica, por ejemplo, una muestra de tejido humano (p. ej., muestra de tejido tumoral), que comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo o con un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano y detecta la unión del anticuerpo a GITR en la muestra.

También se divulgan en el presente documento métodos para determinar si un tumor de un paciente con cáncer es GITR positivo que comprenden:

- (a) poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la

región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano,

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en la muestra y

(c) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral indica que el tumor es GITR positivo.

También se proporcionan en el presente documento métodos para identificar a un paciente con cáncer que probablemente responda a una inmunoterapia anti-GITR que comprenden:

(a) poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano,

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en la muestra tumoral,

(c) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral indica que el tumor es un tumor GITR positivo y que es probable que o se predice que el paciente responda a la inmunoterapia anti-GITR.

También se divulgan, en el presente documento, métodos para tratar a un paciente con cáncer que comprenden:

(a) determinar si un tumor de un paciente con cáncer es GITR positivo (i) poniendo en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano, (ii) detectando la unión del anticuerpo a GITR en la muestra tumoral y (iii) determinando el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral indica que el tumor es GITR positivo, y

(b) si se determina que el tumor es GITR positivo, administrando al paciente un agente que modula la señalización de GITR. En determinadas realizaciones, el agente que modula la señalización de GITR es un anticuerpo anti-GITR agonístico (es decir, agonista).

La presente invención proporciona además métodos de monitorización de un tumor GITR positivo en un paciente con cáncer que comprende:

(a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal usando un anticuerpo que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano,

(b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal por inmunohistoquímica,

(c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),

(d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;

(e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de regresión tumoral, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de progresión tumoral y un nivel relativamente sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de un tumor estable.

La presente invención también proporciona métodos para monitorizar la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR en un paciente que tiene un tumor GITR positivo que comprende:

(a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal antes o después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando un anticuerpo que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano,

- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el primer punto temporal por inmunohistoquímica,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un segundo punto temporal después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando el mismo anticuerpo de la etapa (a),
- 5 (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de inmunoterapia anti-GITR eficaz, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de inmunoterapia anti-GITR ineficaz y una puntuación sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de que la inmunoterapia anti-GITR se está estabilizando. En determinadas realizaciones, la inmunoterapia anti-GITR comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo.
- 10
- 15 En determinadas realizaciones, la muestra tumoral utilizada en los métodos descritos en el presente documento es una muestra tumoral fijada con formol y embebida en parafina. En determinadas realizaciones, la muestra tumoral es una muestra de tejido tumoral congelado. En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de GITR se determina usando un sistema de puntuación, p. ej., el sistema de puntuación H, el sistema de puntuación Allred, el sistema AQUA o un sistema de puntuación automatizado.
- 20
- En determinadas realizaciones, el anticuerpo usado en los métodos descritos en el presente documento comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo usado en los métodos descritos en el presente documento comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En determinadas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une a GITR humano soluble con una K_D de 10 nM o menos, según lo evaluado por Biacore.
- 25
- 30 En determinadas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado humano o quimérico. En determinadas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende secuencias de región variable humana y secuencias de región constante no humana, por ejemplo, una región constante de cadena ligera y pesada de ratón. En determinadas realizaciones, la región Fc de ratón es una región Fc de IgG2a de ratón. En determinadas realizaciones, el anticuerpo quimérico comprende secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal.
- 35
- En determinadas realizaciones, el anticuerpo usado en los métodos descritos en el presente documento comprende un resto detectable, tal como un radiomarcador, marcador fluorescente, un marcador enzimático, biotina, cromóforo o un marcador ECL.
- 40
- La presente invención también proporciona kits de diagnóstico que comprenden un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano e instrucciones de uso. En determinadas realizaciones, el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo, comprende las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal.
- 45
- 50

Breve descripción de las figuras

- 55 **La figura 1** muestra la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 17) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 11) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo monoclonal humano 6G10. Se definen las regiones CDR1 (SEQ ID NO: 5), CDR2 (SEQ ID NO: 6) y CDR3 (SEQ ID NO: 7) y se indican las derivaciones de la línea germinal V, D y J.
- 60 **La figura 2** muestra la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 18) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 12) de la región variable de la cadena ligera kappa del anticuerpo monoclonal humano 6G10. Se definen las regiones CDR1 (SEQ ID NO: 8), CDR2 (SEQ ID NO: 9) y CDR3 (SEQ ID NO: 10) y se indican las derivaciones de la línea germinal V y J.
- La figura 3** muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada de 6G10 (SEQ ID NO: 11) con las secuencias de aminoácidos de V_H 3-33, 3-10 y JH6 de la línea germinal humana.
- 65 **La figura 4** muestra una alineación de la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera (VK1) de 6G10 (SEQ ID NO: 12) con las secuencias de aminoácidos de V_K L18 y JK2 de la línea germinal humana.

La **figura 5** muestra la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 21) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 15) de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 6G10.

La **figura 6** muestra la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 22) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 16) de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 6G10.

5 La **figura 7** muestra tinción de CD3, FoxP3 y GITR en secciones adyacentes fijadas con formol y embebidas con parafina (FFPE, por sus siglas en inglés) de muestras de carcinoma de células escamosas de cuello de útero mediante inmunohistoquímica usando el anticuerpo quimérico 6G10.

Descripción detallada

10 En el presente documento se divulgan diversos métodos para detectar la expresión de GITR en muestras biológicas, p. ej., muestras tumorales, usando anticuerpos de diagnóstico anti-GITR. Dichos anticuerpos pueden ser útiles para, p. ej., monitorizar los niveles de proteína GITR en un sujeto; identificar las células específicas que son GITR positivas en un tejido específico, tal como un tejido tumoral (p. ej., identificando la presencia de GITR en linfocitos Treg y/o
15 células tumorales); la detección temprana de cánceres; monitorizar e identificar de cánceres existentes; y evaluar la eficacia terapéutica de la inmunoterapia anti-GITR.

Definiciones

20 Para que la presente descripción sea más fácilmente comprensible, se definen previamente determinadas expresiones. Se exponen definiciones adicionales a lo largo de la descripción detallada.

La expresión "receptor de TNF inducible por glucocorticoides" o "GITR" como se usa en el presente documento se refiere a un receptor que es miembro de la superfamilia de receptores de TNF, que se une al ligando GITR (GITR-L).
25 GITR también se conoce como superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 18 (TNFRSF18), AITR y CD357. El término "GITR" incluye cualquier variante o isoforma de GITR que las células expresan de forma natural. Por consiguiente, los anticuerpos descritos en el presente documento pueden reaccionar de forma cruzada con GITR de especies distintas a la humana (p. ej. GITR de cinomolgus). Como alternativa, los anticuerpos pueden ser específicos para GITR humano y pueden no mostrar ninguna reactividad cruzada con otras especies. GITR o
30 cualquier variante e isoforma del mismo, se pueden aislar de células o tejidos que los expresan de forma natural o producir de manera recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica y/o las descritas en el presente documento.

Se han identificado tres isoformas de GITR humano, todas los cuales comparten el mismo dominio extracelular, a
35 excepción de su porción C-terminal. La variante 1 (número de acceso NP_004186; SEQ ID NO: 1) consta de 241 aminoácidos y representa el transcrito más largo. Contiene un segmento codificante adicional que conduce a un cambio de marco, en comparación con la variante 2. La proteína resultante (isoforma 1) contiene un extremo C distinto y más corto, en comparación con la isoforma 2. La variante 2 (número de acceso NP_683699; SEQ ID NO: 2) codifica la proteína más larga (isoforma 2), que consiste en 255 aminoácidos y es soluble. La variante 3 (número de acceso
40 NP_683700; SEQ ID NO: 3) contiene un segmento codificante adicional que conduce a un cambio de marco, en comparación con la variante 2. La proteína resultante (isoforma 3) contiene un extremo C distinto y más corto, en comparación con la isoforma 2 y consiste en 234 aminoácidos. Las secuencias de aminoácidos de las isoformas 1, 2 y 3 de GITR humano se exponen en las SEQ ID NO: 1, 2 y 3, respectivamente y el dominio extracelular de GITR
45 maduro tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4.

El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento incluye anticuerpos completos y cualquier fragmento de unión a antígeno (es decir, la "porciones de unión a antígeno") o cadenas sencillas de los mismos. Un "anticuerpo" se refiere, en una realización, a una glicoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas
50 ligera (L) interconectadas por enlaces disulfuro o una porción de unión a antígeno de las mismas. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como V_H) y una región constante de cadena pesada. En determinados anticuerpos de origen natural, la región constante de cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. En determinados anticuerpos de origen natural, cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio, CL. Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR, por sus siglas en inglés). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo
55 carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a los tejidos o factores del hospedador, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (p. ej., células efectoras) y el primer componente (Clq) del sistema del complemento clásico.

Los anticuerpos generalmente se unen de manera específica a su antígeno afín con alta afinidad, reflejada por una
65 constante de disociación (K_D) de 10^{-5} a 10^{-11} M o menos. Se considera que cualquier K_D mayor de aproximadamente 10^{-4} M generalmente indica unión no específica. Como se usa en el presente documento, un anticuerpo que "se une

de manera específica" a un antígeno se refiere a un anticuerpo que se une al antígeno y a antígenos sustancialmente idénticos con alta afinidad, lo que significa que tiene una K_D de 10^{-7} M o menos, preferentemente 10^{-8} M o menos, incluso más preferentemente 5×10^{-9} M y lo más preferentemente entre 10^{-8} M y 10^{-10} M o menos, pero no se une con alta afinidad a antígenos no relacionados.

- 5 Una inmunoglobulina puede ser de cualquiera de los isotipos comúnmente conocidos, incluyendo, pero sin limitación, IgA, IgA secretora, IgG e IgM. El isotipo IgG se divide en subclases en determinadas especies: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 en seres humanos, e IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 en ratones. En determinadas realizaciones, los anticuerpos anti-GITR descritos en el presente documento son del subtipo IgG1 o IgG2. Las inmunoglobulinas, p. ej., IgG1, existen en diversos alotipos, que difieren entre sí en como mucho unos pocos aminoácidos. "Anticuerpo" incluye, a modo de ejemplo, tanto anticuerpos de origen natural como de origen no natural; anticuerpos monoclonales y policlonales; anticuerpos quiméricos y humanizados; anticuerpos humanos y no humanos; anticuerpos completamente sintéticos; y anticuerpos de cadena sencilla.
- 10 La expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse de manera específica a un antígeno (p. ej., GITR humano). Dichos "fragmentos" tienen, por ejemplo, entre aproximadamente 8 y aproximadamente 1500 aminoácidos de longitud, de manera adecuada, entre aproximadamente 8 y aproximadamente 745 aminoácidos de longitud, de manera adecuada, de aproximadamente 8 a aproximadamente 300, por ejemplo, de aproximadamente 8 a aproximadamente 200 aminoácidos o de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 o 100 aminoácidos de longitud. Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo se puede realizar por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión abarcados por la expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, p. ej., un anticuerpo anti-GITR descrito en el presente documento, incluyen (i) un fragmentos Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios V_L , V_H , CL y CH1; (ii) un fragmento $F(ab')_2$, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al. (1989) *Nature* 341:544-546), que consiste en un dominio V_H ; y (vi) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada o (vii) una combinación de dos o más CDR aisladas que opcionalmente pueden estar unidas por un enlazador sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H , estén codificados por genes separados, se pueden unir, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permite formarse como una sola cadena de proteína en la que las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véanse, p. ej., Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; y Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). También se pretende que tales anticuerpos de cadena sencilla estén abarcados por la expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por aquellos expertos en la materia y se exploran para determinar su utilidad del mismo modo que los anticuerpos intactos. Las porciones de unión a antígeno se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante o mediante escisión enzimática o química de inmunoglobulinas intactas.
- 20 La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que muestra una especificidad de unión y afinidad únicas para un epítipo particular o una composición de anticuerpos en la que todos los anticuerpos muestran una especificidad de unión y afinidad únicas para un epítipo particular. Por consiguiente, la expresión "anticuerpo monoclonal humano" se refiere a un anticuerpo o composición de anticuerpos que muestra una especificidad de unión única y que tiene regiones constantes variables y opcionales derivadas de secuencias de inmunoglobulinas de línea germinal humana. En una realización, los anticuerpos monoclonales humanos están producidos por un hibridoma que incluye un linfocito B obtenido a partir de un animal transgénico no humano, p. ej., un ratón transgénico, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada y un transgén de cadena ligera humanas fusionados a una célula inmortalizada.
- 25 La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, incluye todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresados, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como (a) anticuerpos aislados de un animal (p. ej., un ratón) que es transgénico o transcromosómico para genes de inmunoglobulina humana o un hibridoma preparado a partir del mismo, (b) anticuerpos aislados de una célula hospedadora transformada para expresar el anticuerpo, p. ej., a partir de un transfectoma, (c) anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos recombinantes, combinatorios y (d) anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes comprenden regiones variables y constantes que utilizan secuencias de inmunoglobulinas de línea germinal humana particulares que están codificadas por genes de línea germinal, pero incluyen reordenaciones y mutaciones posteriores que se producen, por ejemplo, durante la maduración del anticuerpo. Como es conocido en la técnica (véase, p. ej., Lonberg, *Nature Biotech* 2005; 23:1117-25), la región variable contiene el dominio de unión a antígeno, que está codificado por diversos genes que se reordenan para formar un anticuerpo específico para un antígeno extraño. Además del reordenamiento, la región variable se puede modificar adicionalmente por múltiples cambios de un solo aminoácido (conocidos como mutación o hipermutación somática) para incrementar la afinidad del anticuerpo al antígeno extraño.
- 30 La región constante cambiará en respuesta adicional a un antígeno (es decir, cambio de isotipo). Por consiguiente, las moléculas de ácidos nucleicos reordenadas y mutadas somáticamente que codifican los polipéptidos de

inmunoglobulinas de cadena ligera y cadena pesada en respuesta a un antígeno pueden no tener identidad de secuencia con las moléculas de ácidos nucleicos originales, sino que serán sustancialmente idénticas o similares (es decir, tienen al menos el 80 % de identidad).

5 Un anticuerpo "humano" (HuMAb, por sus siglas en inglés) se refiere a un anticuerpo que tiene regiones variables en las que tanto las regiones marco como las CDR derivan de secuencias de inmunoglobulinas de línea germinal humana. Además, si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también deriva de secuencias de inmunoglobulinas de línea germinal humana. Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulinas de línea germinal humana (p. ej., mutaciones
10 introducidas por mutagénesis aleatoria o específicas de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que se hayan injertado secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como de un ratón, en secuencias marco humanas. Las expresiones anticuerpos "humanos" y anticuerpos "completamente humanos" se usan como sinónimos.

15 Un anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo en el que algunos, la mayoría o todos los aminoácidos fuera de los dominios CDR de un anticuerpo no humano se reemplazan por los aminoácidos correspondientes derivados de inmunoglobulinas humanas. En una realización de una forma humanizada de un anticuerpo, algunos, la mayoría o todos los aminoácidos fuera de los dominios CDR se han reemplazado por aminoácidos de inmunoglobulinas
20 humanas, mientras que algunos, la mayoría o todos los aminoácidos dentro de una o más regiones CDR no cambian. Son admisibles pequeñas adiciones, eliminaciones, inserciones, sustituciones o modificaciones de aminoácidos siempre que no anulen la capacidad del anticuerpo de unirse a un antígeno particular. Un anticuerpo "humanizado" conserva una especificidad antigénica similar a la del anticuerpo original.

25 Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones variables derivan de una especie (p. ej., regiones variables humanas) y las regiones constantes derivan de otra especie (p. ej., regiones constantes de ratón), tal como un anticuerpo en el que las regiones variables derivan de un anticuerpo de ratón y las regiones constantes derivan de un anticuerpo humano. Las secuencias de región constante para diversas especies son conocidas en la técnica y el experto podría obtenerlas fácilmente para generar anticuerpos quiméricos. Un ejemplo de anticuerpo anti-GITR quimérico comprende secuencias de región variable humana y secuencias de cadena constante de ratón. Por
30 ejemplo, en una realización, un anticuerpo anti-GITR quimérico comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal.

35 Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (p. ej., un anticuerpo aislado que se une de manera específica a GITR está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen de manera específica a antígenos que no sean GITR). Un anticuerpo aislado que se une de manera específica a un epítipo de GITR puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otras proteínas GITR de diferentes especies.

40 Como se usa en el presente documento, las expresiones "unión específica", "unión selectiva", "se une de manera selectiva", y "se une de manera específica", se refieren a la unión del anticuerpo a un epítipo en un antígeno predeterminado. Generalmente, el anticuerpo (i) se une con una constante de disociación en equilibrio (K_D) de aproximadamente menos de 10^{-7} M, tal como aproximadamente menos de 10^{-8} M, 10^{-9} M o 10^{-10} M o incluso inferior
45 cuando se determina por, p. ej., tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR, por sus siglas en inglés) en un instrumento BIACORE 2000 que usa el antígeno predeterminado, p. ej., GITR humano recombinante, como analito y el anticuerpo como ligando.

50 El término " K_{asoc} " o " K_a ", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a la velocidad de asociación de una interacción particular antígeno-anticuerpo, mientras que el término " k_{dis} " o " k_d ", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a la velocidad de disociación de una interacción particular anticuerpo-antígeno. El término " K_D ", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a la constante de disociación, que se obtiene de la relación de K_d a K_a (es decir, K_d/K_a) y se expresa como una concentración molar (M). Los valores de K_D para anticuerpos se pueden determinar usando métodos bien establecidos en la técnica. Un método
55 preferido para determinar la K_D de un anticuerpo es mediante el uso de resonancia de plasmón superficial, preferentemente usando un sistema de biosensor, tal como un sistema Biacore®.

60 Un "polipéptido" se refiere a una cadena que comprende al menos dos restos de aminoácidos consecutivamente unidos, sin límite superior en la longitud de la cadena. Uno o más restos de aminoácidos en la proteína pueden contener una modificación tal como, pero sin limitación, glucosilación, fosforilación o formación de enlaces disulfuro. Una "proteína" puede comprender uno o más polipéptidos.

"Inmunoterapia" se refiere al tratamiento de un sujeto afectado por o en riesgo de contraer o padecer una recurrencia de, una enfermedad mediante un método que comprende inducir, potenciar, suprimir o modificar de otro modo una
65 respuesta inmunitaria. En este contexto, "inmunoterapia anti-GITR" se refiere al tratamiento de un sujeto afectado por o en riesgo de contraer o padecer una recurrencia de, una enfermedad (p. ej., cáncer) mediante un método que

comprende inducir, potenciar, suprimir o modificar de otro modo una respuesta inmunitaria administrando un agente (p. ej., un anticuerpo anti-GITR agonístico) que modula la señalización de GITR y da como resultado, p. ej., la inducción y/o potenciación de la activación de los linfocitos T (p. ej., aumento de la producción de IL-2 y/o IFN- γ por linfocitos T y/o aumento de la proliferación de linfocitos T), agotamiento de linfocitos T reguladores, etc.

5 Como se usa en el presente documento, el término "unido" se refiere a la asociación de dos o más moléculas. El enlace puede ser covalente o no covalente. El enlace también puede ser genético (es decir, fusionado de manera recombinante). Tales enlaces se pueden conseguir usando una amplia variedad de técnicas reconocidas en la técnica, tales como la conjugación química y la producción recombinante de proteínas.

10 Como se usa en el presente documento, "administrar" se refiere a la introducción física de una composición que comprende un agente terapéutico a un sujeto, usando cualquiera de los diversos métodos y sistemas de suministro conocidos por los expertos en la materia. Las vías de administración preferidas para los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, espinal u otras vías parenterales de administración, por ejemplo, mediante inyección o infusión. La expresión "administración parenteral" como se usa en el presente documento significa modos de administración diferentes de la administración enteral y tópica, normalmente, mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intraarterial, intratecal, intralinfática, intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal, así como electroporación *in vivo*. Como alternativa, un anticuerpo descrito en el presente documento se puede administrar por una vía no parenteral, tal como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, oral, vaginal, rectal, sublingual o tópica. La administración también se puede realizar, por ejemplo, una vez, una pluralidad de veces y/o durante uno o más períodos prolongados.

25 Como se usa en el presente documento, "cáncer" se refiere a un amplio grupo de enfermedades caracterizadas por el crecimiento incontrolado de células anormales en el cuerpo. La división celular no regulada puede dar como resultado la formación de tumores o células malignas que invaden los tejidos vecinos y también pueden metastatizar a partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o del torrente sanguíneo.

30 Como se usa en el presente documento, un "tumor" se refiere a una masa anormal de tejido que es el resultado de una división celular excesiva que no está controlada y es progresiva. Los tumores pueden ser benignos o malignos.

El término "paciente" incluye sujetos humanos y otros mamíferos que reciben tratamiento profiláctico o terapéutico.

35 Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" incluye cualquier animal humano o no humano. Por ejemplo, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar un sujeto que tiene cáncer. La expresión "animal no humano" incluye todos los vertebrados, p. ej., mamíferos y no mamíferos, tales como primates no humanos, ovejas, perros, vacas, pollos, anfibios, reptiles, etc. Diversos aspectos descritos en el presente documento se describen con más detalle en las siguientes subsecciones.

40 Como se usa en el presente documento, las formas en singular "un/una", "uno/a", y "el/la" incluyen referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. El uso de "o" o "y" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "que incluye", así como otras formas, como "incluyen" "incluye", e "incluido" no es limitante.

45 El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal y similares, abarca variaciones de hasta $\pm 10\%$ del valor especificado. A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de reacción, puntuaciones en un sistema de puntuación reconocido en la técnica, etc., usados en el presente documento se entienden modificados por el término "aproximadamente".

La expresión "muestra de un sujeto" se refiere a células (p. ej., células tumorales, linfocitos T, linfocitos B u otras), tejidos (p. ej., tumor), fluidos y/o combinación de los mismos aislados de un sujeto.

55 La expresión "muestra de control" o "muestra de referencia" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier muestra de control o referencia clínicamente relevante, incluyendo, p. ej., una muestra de un sujeto sano o una muestra preparada en un momento anterior del sujeto que se está evaluando. Por ejemplo, una muestra de control o muestra de referencia puede ser una muestra tomada de un sujeto antes del inicio del cáncer, una etapa más temprana de la enfermedad o antes de la administración del tratamiento.

60 Como se usa en el presente documento, "nivel umbral" o "nivel de corte" en el contexto de los niveles de expresión se refiere a un nivel de expresión de proteína GITR por encima del cual una muestra del paciente (p. ej., una muestra de tumor del paciente) se considera "GITR-positiva" y por debajo del cual la muestra se considera "GITR negativa". El nivel umbral puede basarse en, p. ej., una o más compilaciones de datos de muestras de pacientes "normales" (p. ej., una población de pacientes que no tienen tumores GITR positivos) o de tejido normal correspondiente del paciente que se está evaluando. El nivel umbral puede colocarse en el marco de un sistema de puntuación reconocido en la

65

técnica (p. ej., el sistema de puntuación H). Por ejemplo, en una realización, el tumor de un paciente con una puntuación H de 1 en el tejido normal correspondiente se consideraría GTR positivo si la puntuación H del tumor es mayor que 1. Un nivel de detección de umbral puede ser el nivel de detección más bajo usando un método de detección dado. Por ejemplo, un nivel umbral puede ser el nivel por debajo del cual no se puede detectar GTR usando
5 inmunohistoquímica, p. ej., usando un método de inmunohistoquímica descrito en el presente documento.

Anticuerpos de diagnóstico anti-GTR

10 En el presente documento se proporcionan anticuerpos de diagnóstico anti-GTR que son útiles para detectar la expresión de la proteína GTR en tejido humano, p. ej., tejido tumoral. Dichos anticuerpos son útiles, p. ej., para identificar/seleccionar sujetos que probablemente se beneficien (es decir, respondan al) del tratamiento con inmunoterapia anti-GTR, monitorizar la progresión de un tumor GTR positivo y/o monitorizar la eficacia de la inmunoterapia anti-GTR.

15 Por consiguiente, en determinadas realizaciones, un anticuerpo de diagnóstico anti-GTR útil para detectar la expresión de la proteína GTR en muestras de tejido, p. ej., muestras de tejido tumoral humano, comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera, secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera o secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GTR completamente humano). En la Tabla 2 se proporciona un sumario de las secuencias relevantes para 6G10.

20 El anticuerpo anti-GTR usado en los métodos de la presente invención tiene las secuencias de la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y las secuencias de la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, y se une de manera específica a GTR humano.

25 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GTR tiene la secuencia de la región variable de cadena pesada expuesta en la SEQ ID NO: 11, y la secuencia de la región variable de cadena ligera expuesta en la SEQ ID NO: 12.

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GTR tiene secuencias de cadena pesada y cadena ligera expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GTR es un anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 o una variante de los mismos. En otras realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgA, IgD, IgE o IgM.

40 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GTR es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico.

45 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GTR se une a GTR soluble con una $K_{d,e}$ de 10 nM o menos como se determina por Biacore.

50 En determinadas realizaciones, El anticuerpo anti-GTR es un anticuerpo quimérico. En una realización, el anticuerpo anti-GTR tiene las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera del anticuerpo 6G10 (SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente), y las regiones constantes de una especie no humana, p. ej., una región constante de IgG2a de ratón (SEQ ID NO: 25). Dichos anticuerpos quiméricos 6G10 son útiles para, p. ej., reducir la tinción de fondo en inmunohistoquímica al detectar la expresión de la proteína GTR en el tejido humano. Por consiguiente, en una realización, el anticuerpo de diagnóstico anti-GTR es un anticuerpo quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal.

55 En determinadas realizaciones, los anticuerpos de diagnóstico anti-GTR descritos en el presente documento comprenden un resto detectable para facilitar la detección de la expresión de GTR en, por ejemplo, muestras tumorales mediante, p. ej., inmunohistoquímica, tal como se describe *infra*. Los restos de detección a modo de ejemplo incluyen marcadores luminiscentes, marcadores fluorescentes, radiomarcadores (p. ej., ^{99}Tc , ^{45}Ti , ^{112}In , ^{111}In , ^3H , ^{125}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{14}C , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{58}Co , ^{58}Co , ^{51}Cr , ^{67}Cu , ^{64}Cu , ^{66}Ga , ^{68}Ga , ^{76}Br , ^{89}Zr , ^{35}S , ^{32}P , ^{90}Y , ^{13}N , ^{15}O , ^{211}At , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{75}Se), y marcadores enzimáticos (p. ej., peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa, ureasa, acetilcolina transferasa, luciferasa y beta-galactosidasa), etiquetas de epítomos, marcadores de cromóforos, marcadores fosforescentes, moléculas de fotoafinidad, marcadores de ECL, colorantes, biotina, haptenos, y similares. Dichos marcadores son bien conocidos en la técnica y se pueden fijar a los anticuerpos anti-GTR usando métodos reconocidos en la técnica. Preferentemente, la fijación del marcador detectable no interfiere significativamente con la unión del anticuerpo a GTR. El medio de detección se determina por el marcador elegido. Se puede conseguir la aparición del marcador o de sus productos de reacción a simple vista, en el caso en el que el marcador está en forma de partículas y se acumula a niveles adecuados o usando instrumentos tales como un espectrofotómetro, un luminómetro, un fluorímetro, y similares, todo de acuerdo con la práctica convencional.

65 Preferentemente, los métodos de conjugación de los marcadores dan como resultado enlaces que son

sustancialmente (o casi) no inmunogénicos, p. ej., enlaces péptidos (es decir, amida), de sulfuro, (estéricamente impedido), disulfuros, hidrazona, y éter. Estos enlaces son casi no inmunogénicos y muestran estabilidad razonable dentro del suero (véase, Senter, et al., *Curr Opin Chem Biol* 2009;13 235-44; documentos WO 2009/059278; WO 95/17886).

5 Dependiendo de la naturaleza bioquímica del resto y del anticuerpo, se pueden emplear diferentes estrategias de conjugación. En el caso en el que el resto es de origen natural o recombinante de entre 50 a 500 aminoácidos, existen procedimientos convencionales en los libros de texto que describen la química para la síntesis de los conjugados proteicos, que pueden seguirse fácilmente por el experto (véase, p. ej., Hackenberger et al., *Angew Chem Int Ed Engl* 2008;47:10030-74). En una realización se usa la reacción de un resto maleinimido con un resto de cisteína dentro del anticuerpo o del resto. Esto es una química de acoplamiento especialmente adecuada en caso de que se use, p. ej., un fragmento Fab o Fab' de un anticuerpo. Alternativamente en una realización se realiza el acoplamiento al extremo C-terminal del anticuerpo o del resto. La modificación C-terminal de una proteína, p. ej., de un fragmento Fab, p. ej., se puede realizar como se describe (Sunbul et al. *org Biomol Chem* 2009; 7:3361-71).

15 En general, la reacción específica de sitio y el acoplamiento covalente se basa en la transformación de un aminoácido natural en un aminoácido con una reactividad que es ortogonal a la reactividad de los otros grupos funcionales presentes. Por ejemplo, una cisteína específica dentro de un contexto de secuencia rara puede convertirse enzimáticamente en un aldehído (véase Frese et al. *Chem-BioChem* 2009; 10:425-7). También es posible obtener una modificación de aminoácidos deseada usando la reactividad enzimática específica de determinadas enzimas con un aminoácido natural en un contexto de secuencia dado (véase, p. ej., Taki et al., *Prot Eng Des Sel* 2004; 17:119-26; Gautier et al. *Chem Biol* 2008;15:128-36; Bordusa et al., *Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403).

25 La reacción específica a sitio y el acoplamiento covalente también se puede conseguir mediante la reacción selectiva de los aminoácidos terminales con reactivos modificantes apropiados.

La reactividad de una cisteína N-terminal con benzonitrilos (véase Ren et al., *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48:9658-62) puede usarse para conseguir un acoplamiento covalente específico de sitio.

30 La unión química natural también puede depender de los restos de cisteína C-terminal (Taylor et al., *Nucleic Acids and Molecular Biology* 2009; 22:65-96). El documento EP 1 074 563 describe un método de conjugación que se basa en la reacción más rápida de una cisteína dentro de un tramo de aminoácidos negativamente cargados con una cisteína localizada en un tramo de aminoácidos positivamente cargados.

35 El resto también puede ser un péptido sintético o un mimético peptídico. En el caso de que un polipéptido se sintetice químicamente, los aminoácidos con reactividad química ortogonal pueden incorporarse durante dicha síntesis (véase, p. ej., de Graaf et al., *Bioconjug Chem* 2009;20:1281-95). Debido a que está en juego y se puede introducir una gran diversidad de grupos funcionales ortogonales en un péptido sintético, la conjugación de tal péptido a un enlazador es química convencional.

40 En algunas realizaciones, el marcador detectable se conjuga indirectamente con el anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con biotina y el marcador puede conjugarse con avidina usando métodos bien conocidos en la técnica. En otra realización, un anticuerpo no marcado se detecta usando un anticuerpo marcado que se une al anticuerpo no marcado. En determinadas realizaciones, el anticuerpo marcado que se usa para la detección está marcado con cualquiera de los marcadores expuestos anteriormente. En determinadas realizaciones, el marcado y la detección se realizan como se describe en los Ejemplos, p. ej., usando el sistema de detección Bond Polymer Refine de Leica (Leica, Buffalo Grove, IL, Catálogo DS9800).

Métodos de producción

50 Los anticuerpos de diagnóstico anti-GITR descritos en el presente documento pueden producirse usando técnicas reconocidas en la técnica. En determinadas realizaciones, el anticuerpo puede purificarse a partir de un hibridoma que produce el anticuerpo (p. ej., el anticuerpo 6G10). Por ejemplo, se puede cultivar un hibridoma que produce el anticuerpo en matraces giratorios de dos litros para la purificación de anticuerpos monoclonales. Los sobrenadantes se pueden filtrar y concentrar antes de la cromatografía por afinidad con proteína A-sepharose (Pharmacia, Piscataway, N.J.). La IgG eluida se puede examinar mediante electroforesis en gel y cromatografía de líquidos de alta resolución para asegurar la pureza. La solución tampón se puede intercambiar en PBS y la concentración se puede determinar por DO280 usando el coeficiente de extinción 1,43.

60 En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento pueden producirse de manera recombinante. Por ejemplo, pueden insertarse los ADN que codifican cadenas ligeras y pesadas parciales o de longitud completa en vectores de expresión, de modo que los genes se unen operativamente a secuencias de control transcripcional y traduccional. En este contexto, la expresión "unido operativamente" pretende significar que un gen de anticuerpo se une en un vector de modo que las secuencias de control transcripcional y traduccional dentro del vector cumplen con su función prevista de regular la transcripción y traducción del gen del anticuerpo. E vector de expresión y las secuencias de control de la expresión se eligen para que sean compatibles con la célula de expresión

hospedadora utilizada. El gen de la cadena ligera de anticuerpo y el gen de la cadena pesada de anticuerpo se pueden insertar en vectores separados o ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión. Los genes de anticuerpos se pueden insertar en el(los) vector(es) de expresión mediante métodos convencionales (p. ej., unión de sitios de restricción complementarios en el fragmento de gen de anticuerpo y en el vector o unión de extremos romos si no hay sitios de restricción). Las regiones variables de cadena ligera y pesada de los anticuerpos descritos en el presente documento se pueden usar para crear genes de anticuerpos de longitud completa de cualquier isotipo de anticuerpo insertándolos en los vectores de expresión que ya codifican regiones constantes de cadena pesada y de cadena ligera del isotipo deseado de manera que el segmento V_H se une operativamente al(a los) segmento(s) C_H dentro del vector y el segmento V_L se une operativamente al segmento C_L dentro del vector.

Además de los genes de cadenas de anticuerpos, los vectores de expresión recombinantes pueden portar secuencias reguladoras que controlan la expresión de los genes de cadenas de anticuerpos en una célula hospedadora. La expresión "secuencia reguladora" pretende incluir promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (p. ej., señales de poliadenilación) que controlan la transcripción o la traducción de los genes de cadenas de anticuerpos. Tales secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)). Los expertos en la materia apreciarán que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de secuencias reguladoras, puede depender de tales factores como la elección de la célula hospedadora a transformar, el nivel de expresión de proteína deseado, etc. Las secuencias reguladoras preferidas para la expresión en células hospedadoras de mamífero incluyen elementos víricos que dirigen altos niveles de expresión de proteína en células de mamífero, tales promotores y/o potenciadores derivados de citomegalovirus (CMV), Virus Simio 40 (SV40), (p. ej., el promotor tardío principal de adenovirus (AdMLP, por sus siglas en inglés)) y polioma. Como alternativa, se pueden usar secuencias reguladoras no víricas, tales como el promotor de ubiquitina o promotor de β-globina. Más aún, los elementos reguladores compuestos de secuencias de diferentes fuentes, tales como el sistema promotor SRα, que contiene secuencias del promotor temprano de SV40 y la repetición terminal larga del virus de leucemia de linfocitos T humano tipo 1 (Takebe et al., MCB 1988;8:466-72).

Además de los genes de cadenas de anticuerpos y de las secuencias reguladoras, los vectores de expresión recombinantes pueden portar secuencias adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en células hospedadoras (p. ej. orígenes de replicación) y genes marcadores seleccionables. El gen marcador seleccionable facilita la selección de células hospedadoras en las que se ha introducido el vector (véase, p. ej., las Patentes de Estados Unidos n.º 4.399.216, 4.634.665 y 5.179.017). Por ejemplo, el gen marcador seleccionable confiere generalmente resistencia a fármacos, tal como G418, higromicina o metotrexato, a una célula hospedadora en la que se ha introducido el vector. Los genes marcadores seleccionables preferidos incluyen el gen de dihidrofolato reductasa (DHFR) (para su uso en células hospedadoras dhfr con selección/amplificación en metotrexato) y el gen neo (para selección de G418).

Para la expresión de las cadenas ligeras y pesadas, el o los vectores de expresión que codifican las cadenas pesadas y ligeras se transfectan en una célula hospedadora mediante técnicas convencionales. Se pretende que las diversas formas del término "transfección" abarquen una amplia variedad de técnicas comúnmente usadas para la introducción de ADN exógeno en una célula hospedadora procarionta o eucariota, p. ej., electroporación, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano y similares. Aunque es teóricamente posible expresar los anticuerpos descritos en el presente documento en células hospedadoras procariontas o eucariotas, la expresión de los anticuerpos en células eucariotas, y los más preferentemente en células hospedadoras de mamífero, es la más preferida debido a que tales células eucariotas, y en particular las células de mamífero, son más propensas que las células procariontas a ensamblar y secretar un anticuerpo adecuadamente plegado e inmunitariamente activo. Se ha informado que la expresión procarionta de genes de anticuerpos es ineficaz para la producción de altos rendimientos de anticuerpos activos (Boss et al., Immunology Today 1985;6:12-13).

Las células hospedadoras de mamífero preferidas para la expresión de los anticuerpos recombinantes descritos en el presente documento incluyen Células de Ovario De Hámster Chino (CHO) (incluyendo células dhfr-CHO, descritas en Urlaub y Chasin, PNAS 19809;77:4216-220, usadas con un marcador DHFR seleccionable, p. ej., como se describe en Kaufman et al., Mol Biol 1982; 159:601-21, células de mieloma NSO, células COS y células SP2. En particular, para su uso con células de mieloma NSO, otro sistema de expresión preferido es el sistema de expresión del gen GS divulgado en los documentos WO 87/04462, WO 89/01036 y EP 338.841. Cuando se introducen vectores de expresión recombinantes que codifican genes de anticuerpos en células hospedadoras de mamífero, los anticuerpos se producen cultivando las células hospedadoras durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedadoras o, más preferentemente, la secreción del anticuerpo en el medio de cultivo en el que se cultivan las células hospedadoras. Los anticuerpos se pueden recuperar del medio de cultivo usando métodos de purificación de proteínas convencionales.

Los anticuerpos quiméricos anti-GITR descritos en el presente documento se pueden preparar basándose en la secuencia de un anticuerpo monoclonal humano preparado como se describe anteriormente. Por ejemplo, en una realización, el ADN que codifica las regiones variables pesadas y ligeras humanas del anticuerpo 6G10 puede unirse operativamente a una región constante no humana (p. ej., una región constante murina) usando tecnología recombinante habitual.

Métodos de detección de GITR humano en células

En el presente documento se proporcionan métodos para detectar la expresión de la proteína GITR en una muestra biológica, p. ej., una muestra de tejido tumoral humano, poniendo en contacto la muestra con un anticuerpo anti-GITR, p. ej., descrito en el presente documento, tal como un anticuerpo anti-GITR que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente, las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano y detecta la unión del anticuerpo a GITR en la muestra, p. ej., mediante inmunohistoquímica. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal.

En determinadas realizaciones, las muestras biológicas a modo de ejemplo incluyen muestras de sangre, muestras de suero, células, tejido resecado quirúrgicamente y tejido biopsiado (p. ej. tejido canceroso) obtenidos del paciente con cáncer. Las muestras biológicas para su uso en los métodos descritos en el presente documento pueden ser naturales, congeladas o fijadas. Las muestras biológicas, p. ej., muestras de tumor, se puede obtener del paciente usando métodos habituales, tal como, pero sin limitación, biopsia, resección quirúrgica o aspiración.

Los métodos usados para detectar la expresión de GITR en tejido humano, p. ej., tejido tumoral, pueden ser cualitativos, semicuantitativos o cuantitativos. Los métodos basados en anticuerpos reconocidos en la técnica para detectar niveles de proteína GITR en muestras biológicas incluyen, pero sin limitación, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos, ensayos de electroquimioluminiscencia (ECL, por sus siglas en inglés), resonancia del plasmón superficial, transferencia Western, inmunoprecipitación, clasificación celular activada por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés), inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, y similares. Los métodos para detectar la expresión de GITR en una muestra biológica pueden incluir muestras de control (controles negativos y positivos). Por ejemplo, una muestra de control negativo puede ser una muestra que no contiene proteína GITR y una muestra de control positivo es una muestra que contiene proteína GITR. La comparación de los resultados con los controles negativos y positivos puede confirmar la presencia o ausencia de GITR en la muestra biológica.

La expresión de GITR en una muestra de tejido tumoral se puede evaluar por inmunohistoquímica. Esta técnica permite la detección de GITR en tipos celulares específicos, p. ej., linfocitos Treg, p. ej., linfocitos Treg dentro de un tumor y células tumorales.

Los métodos inmunohistoquímicos generales son bien conocidos en la técnica. Las condiciones específicas, las consideraciones y las directrices para realizar inmunohistoquímica se describen en, p. ej., Immunohistochemical Staining Methods 6th Edition 2013, Taylor CR, Rudbeck L, eds., Dako North America, disponible como una Guía Educativa en www.dako.com; "Immunohistochemical Staining Method guide"). La tinción inmunohistoquímica puede realizarse en secciones de tejido fijadas o en secciones de tejido congeladas. Cuando se usan secciones de tejido fijadas, p. ej., secciones de tejido fijadas con formol embebidas en parafina (FFPE), el procedimiento generalmente implica las siguientes etapas: obtener una muestra de tejido tumoral (p. ej., mediante biopsia), fijación de la muestra tumoral; imbibición (p. ej., en parafina); seccionamiento y montaje; recuperación de antígenos; incubación con un anticuerpo primario (p. ej., anticuerpo quimérico 6G10 descrito en el presente documento), detección (p. ej., después de la amplificación de la señal del complejo antígeno/anticuerpo) e interpretación por un patólogo (p. ej., usando un sistema de puntuación reconocido en la técnica).

Fijadores adecuados y no limitantes incluyen, por ejemplo, paraformaldehído, glutaraldehído, formaldehído, ácido acético, acetona, tetraóxido de osmio, ácido crómico, cloruro de mercurio, ácido pícrico, alcoholes (p. ej., metanol, etanol), fluido de Gendre, fluido de Rossman, fijador B5, fluido de Bouin, fijador de Carnoy y metacarn. En una realización preferida, la muestra tumoral se fija en formaldehído (p. ej., formol tamponado al 10 %, que corresponde a formaldehído al 4 % en una solución tamponada). Una vez fijada, la muestra tumoral se deshidrata en serie usando alcohol o xileno, se embebe en parafina y se corta con un microtomo para generar secciones de tejido tumoral (p. ej., con un grosor de aproximadamente 4-5 μm), que después se pueden montar en portaobjetos de microscopio (p. ej., portaobjetos de vidrio recubiertos con adhesivo).

Los materiales de imbibición a modo de ejemplo incluyen parafina, celoidina, compuesto OCT™, agar, plásticos o acrílicos. En una realización preferida, el agente de imbibición es parafina.

La recuperación de antígenos se puede realizar usando cualquier método conocido en la técnica. El tratamiento de recuperación de antígeno puede incluir calor (p. ej., recuperación de epítomos inducida por calor (HIER, por sus siglas en inglés), como se describe en el Ejemplo 3) o degradación enzimática (recuperación de epítomos inducida por proteolíticos (PIER, por sus siglas en inglés)). Métodos de recuperación de antígenos a modo de ejemplo incluyen

calentamiento por microondas, tratamiento proteolítico (p. ej., con proteínasa K), calentamiento por olla a presión y calentamiento por baño de agua. Se describen métodos generales detallados para la recuperación de antígenos en el Capítulo 3 de la guía Immunohistochemical Staining Method. En determinadas realizaciones, HIER realiza la recuperación de antígenos en combinación con tampones de recuperación de antígenos disponibles comercialmente (como se describe en el Ejemplo 3).

Los métodos descritos en el presente documento emplean anticuerpos anti-GITR para detectar los niveles de expresión de la proteína GITR humana. El anticuerpo de diagnóstico anti-GITR usado en los métodos de la presente invención comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo de diagnóstico anti-GITR comprende las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano, como se describe *supra*. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal. Tales anticuerpos son particularmente útiles para detectar la expresión de GITR en secciones de tejido tumoral (véase, p. ej., Ejemplo 3).

La expresión de proteína GITR en muestras de tejido, p. ej., tumor, se pueden detectar usando métodos directos o indirectos. Por ejemplo, el anticuerpo primario puede comprender un resto detectable, tal como la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP) o un marcador fluorescente (p. ej., FITC, TRITC), tal como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, el anticuerpo primario en sí mismo no comprende un resto detectable, pero se detecta mediante la unión de un anticuerpo secundario al mismo, para inmunohistoquímica indirecta. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el anticuerpo secundario comprende un marcador detectable, p. ej., un marcador enzimático, cromogénico o fluorescente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo primario es un anticuerpo quimérico que comprende secuencias de región variable humana y una región Fc no humana. Se puede usar un anticuerpo secundario para reconocer la región Fc no humana del anticuerpo primario para reducir la tinción de fondo.

En algunas realizaciones, la expresión de la proteína GITR se puede detectar usando el método del complejo avidina-biotina (método ABC). En estas realizaciones, el anticuerpo secundario está biotinilado y puede servir como puente entre el anticuerpo primario y el complejo biotina-avidina-peroxidasa. Otros métodos no limitantes adecuados para la inmunohistoquímica incluyen los descritos en el Capítulo 6 de la guía Immunohistochemical Staining Method, p. ej., los métodos descritos en Chilosi et al., *Biotech Histochem* 1994;69:235; Sabbatini et al., *J Clin Pathol* 1998;51:506-11; y Gross et al., *JBC* 1959;234:1622.

Los métodos generales para preparar y teñir secciones de tejido congelado son bien conocidos en la técnica, y se describen en, p. ej., la guía Immunohistochemical Staining Method, Capítulo 3 de Immunohistochemistry and Methods (Buchwalow y Bocker, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010), y Capítulo 21 de Theory and Practice of Histological Techniques (Bancroft y Gamble, 6ª edición, Elsevier Ltd., 2008). La tinción de la sección de tejido congelado se puede realizar como se describe en el Ejemplo 3.

La proteína GITR se puede detectar como se describe en los Ejemplos.

En algunas realizaciones, los portaobjetos teñidos con los anticuerpos anti-GITR descritos en el presente documento se pueden contrateñir con, p. ej., hematoxilina y/o eosina, usando métodos bien conocidos en la técnica.

En la etapa de interpretación, la expresión de la proteína GITR detectada por inmunohistoquímica se puede puntuar usando métodos de puntuación reconocidos en la técnica. A continuación, se describen ejemplos no limitantes de métodos de puntuación.

Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la expresión de GITR se evalúa usando el sistema de puntuación H (puntuación histoquímica), que se usa ampliamente en la técnica y es útil dado su intervalo dinámico y el uso de percentiles ponderados. La puntuación H es un sistema de puntuación semicuantitativo basado en la fórmula: 3 x porcentaje de células fuertemente teñidas (tinción 3+) + 2 x porcentaje de células moderadamente teñidas (tinción 2+) + 1 x porcentaje de células débilmente teñidas (tinción 1+) + 0 x porcentaje de células no teñidas (tinción 0) células, dando un intervalo de puntuación de 0 a 300. Véanse, p. ej., McCarty et al., *Cancer Res* 1986;46:4244-8; Bosman et al., *J Clin Pathol* 1992;45:120-4; Dieset et al., *Analyt Quant Cytol Histol* 1996;18:351-4. El tejido de control puede incluir, p. ej., tejido no tumoral correspondiente del mismo sujeto. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el número de células que se tiñen positivamente para GITR usando los anticuerpos anti-GITR en el presente documento, y la intensidad de la tinción, se puede usar para determinar una puntuación H.

En otras realizaciones, la expresión de GITR se evalúa usando el sistema de puntuación Allred (Allred et al., Mod

Pathol 1998;11:155-68; Harvey et al., J Clin Oncol 1999;17:1474-91). Este sistema de puntuación implica añadir puntuaciones de proporción e intensidad para obtener una puntuación total. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la puntuación de proporción se obtiene basándose en la proporción estimada de células tumorales que son GTR positivas (0: ninguna, 1: <1/100, 2: 1/100 a 1/10, 3: 1/10 a 1/3, 4: 1/3 a 2/3, y 5: > 2/3), y la puntuación de intensidad se obtiene basándose en la intensidad media de la expresión de GTR en células tumorales positivas (0: ninguna, 1: débil, 2: intermedia, 3: fuerte). Por lo tanto, las puntuaciones Allred varían de 0 a 8, con una puntuación que varía de 3 a 8 considerada positiva (es decir, detección positiva). Por consiguiente, en determinadas realizaciones, los tumores con una puntuación Allred de 3 a 8, por ejemplo, una puntuación Allred de 3, 4, 5, 6, 7 u 8, para la tinción con GTR se consideran tumores GTR positivos.

En otras realizaciones, el sistema de puntuación está automatizado, p. ej., informatizado y cuantificado por análisis de imagen. Los métodos automatizados son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, una puntuación promedio de la medida del umbral (ATM, por sus siglas en inglés), que obtiene un promedio de 255 niveles de intensidad de tinción, se puede calcular como se describe en, p. ej., Choudhury et al., J Histochem Cytochem 2010;58:95-107, Rizzardi et al., Diagnostic Pathology 2012; 7:42-52. Otro sistema de puntuación automatizado es AQUA® (análisis cuantitativo automatizado), que se realiza usando, p. ej., micromatrices de tejidos (TMA, por sus siglas en inglés), sobre una escala continua. AQUA® es un híbrido de inmunohistoquímica convencional y citometría de flujo que proporciona una puntuación numérica objetiva que va de 1-255 e implica la recuperación de antígenos, el uso de anticuerpos primarios y secundarios y la detección fluorescente multiplexada. Los puntos de corte óptimos se pueden determinar como se describe en Camp et al. Clin Cancer Res 2004; 10:7252-9. El sistema de puntuación AQUA® se describe en detalle en Camp et al., Nat Med 2002;8:1323-7; Camp et al., Cancer Res 2003;63:1445-8; Ghosh et al., Hum Pathol 2008;39:1835-43; Bose et al., BMC Cancer 2012; 12:332; Mascaux et al., Clin Cancer Res 2011; 17:7796-807. Otras plataformas de inmunohistoquímica automatizadas adecuadas incluyen plataformas disponibles comercialmente, tal como la plataforma de tinción BOND RX de Leica. La plataforma detecta la expresión de GTR en el tejido tumoral en función de la intensidad de tinción en la siguiente escala: mínima, < 1 células por campo de objetivo de 20x; leve, 1 ~ < 10 células por campo de objetivo de 20x; moderada, 10 ~ < 50 células por campo de objetivo de 20x, acentuada, 50 ~ < 200 células por objetivo de 20x; e intensa, > 200 células por campo de objetivo de 20x.

Por consiguiente, la presente invención proporciona métodos para determinar el nivel de expresión del receptor de TNF inducible por glucocorticoides (GTR) en linfocitos infiltrantes de tumores (TIL, por sus siglas en inglés) y/o en células tumorales en una muestra de tejido, que comprende

- (a) poner en contacto una muestra de tejido de un paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se une a GTR humano,
- (b) detectar la unión del anticuerpo a GTR en TIL y células tumorales de la muestra de tejido mediante inmunohistoquímica; y, opcionalmente,
- (c) teñir la muestra de tejido con marcadores de TIL y/o células tumorales y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los TIL y/o las células tumorales que se identificaron como GTR positivos en la etapa (b).

También se divulgan en el presente documento métodos para determinar si un tumor de un paciente con cáncer es GTR positivo y/o comprende células GTR positivas, que comprende poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GTR humano.

También se divulgan en el presente documento métodos para determinar si un tumor de un paciente con cáncer es GTR positivo y/o comprende células GTR positivas, que comprenden:

- (a) poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GTR humano y
- (b) detectar la unión del anticuerpo a GTR en la muestra.

También se describen en el presente documento métodos para determinar si un tumor de un paciente con cáncer es GTR positivo y/o comprende células GTR positivas que comprenden:

- (a) poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del

mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano,

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en la muestra y

(c) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral, p. ej., nivel de detección usando un método de detección dado, indica que el tumor es un tumor GITR positivo.

También se divulgan en el presente documento métodos para identificar células GITR positivas en una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor) del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en células específicas o individuales de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de tipos celulares dados (p. ej., marcadores CD3, CD4, CD8, CD25 o FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar las células que se identificaron como GITR positivas en la etapa (b).

La etapa (c) permite la identificación de células GITR positivas como que son, p. ej., linfocitos T, tal como linfocitos Treg o células tumorales. Por lo tanto, en el presente documento se divulgan los siguientes métodos:

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de, linfocitos T que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor) y/o el nivel de GITR en linfocitos T de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en linfocitos T de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente, (c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de linfocitos T (p. ej., marcadores CD3, CD4, CD8, CD25 o FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los linfocitos T que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de, linfocitos Treg que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor) y/o el nivel de GITR en linfocitos Treg de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en linfocitos Treg de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de linfocitos Treg (p. ej., un marcador FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los linfocitos Treg que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de, linfocitos Teff que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor) y/o el nivel de GITR en linfocitos Teff de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de

unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en linfocitos Teff de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de linfocitos Teff (p. ej., un marcador FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los linfocitos Teff que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de linfocitos Treg y Teff que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor), y/o el nivel de GITR en los linfocitos Treg y Teff de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en linfocitos Treg y Teff de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de linfocitos Treg y Teff (p. ej., marcadores CD3, CD4, CD8, CD25, y/o FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los linfocitos Treg y Teff que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, o identificar el número de, células tumorales que expresan GITR en una muestra tumoral, y/o el nivel de GITR en células tumorales de una muestra tumoral que comprende:

(a) poner en contacto una muestra tumoral, p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en células tumorales de la muestra tumoral; y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra tumoral, p. ej., con marcadores de células tumorales u otro tipo celular y/o con hematoxilina y eosina, para identificar las células tumorales que se identificaron como GITR positivas en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de, células tumorales y linfocitos Treg que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor), y/o el nivel de GITR en células tumorales y linfocitos Treg de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en células tumorales y linfocitos Treg de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de tumor y/o de linfocitos Treg (p. ej., un marcador FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar las células tumorales y los linfocitos Treg que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Un método para detectar la presencia de, y/o identificar el número de, células tumorales, linfocitos Treg y linfocitos Teff que expresan GITR en una muestra de tejido (p. ej., Tumor) y/o el nivel de GITR en células tumorales, linfocitos Treg y linfocitos Teff de una muestra de tejido (p. ej., tumor) que comprende:

(a) poner en contacto una muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., de un sujeto, con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano; y

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en células tumorales, linfocitos Treg y linfocitos Teff de la muestra de tejido (p. ej., tumor); y, opcionalmente,

(c) teñir la muestra de tejido (p. ej., tumor), p. ej., con marcadores de células tumorales, linfocitos Treg y/o linfocitos Teff (p. ej., marcadores CD3, CD4, CD8, CD25 y/o FoxP3) y/o con hematoxilina y eosina, para identificar las células tumorales, linfocitos Treg y linfocitos Teff que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).

Marcadores tumorales a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, receptores de ErbB, Melan A [MART1], gp100, tirosinasa, TRP-1/gp 75, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, proteínas E6 y E7 de VPH, Mucina [MUC-1], antígeno específico de la próstata [PSA], antígeno carcinoembrionario [CEA], antígeno tumoral PIA, MAGE-2, MAGE-4, MAGE-6, MAGE-10, MAGE-12, BAGE-1, CAGE-1,2,8, CAGE-3 to 7, LAGE-1, NY-ESO-1/LAGE-2, NA-88, GnTV y TRP2-INT2.

Los marcadores de superficie de linfocitos T reg incluyen CD4, CD25 y FOXP3.

En determinadas realizaciones, se utiliza una combinación de métodos de detección para aumentar la precisión de la designación de un tumor como GITR positivo o GITR negativo. Por ejemplo, en una realización, se usa una combinación de inmunohistoquímica e hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para tipificar un tumor como GITR positivo o negativo. Tales enfoques se han usado para, p. ej., optimizar las pruebas de Her-2/neu. Véase, p. ej., Ridolfi et al., Mod Pathol 2000;13:866-73. Cualquiera de los métodos de detección basados en anticuerpos descritos en el presente documento puede usarse en combinación o en combinación con métodos de detección basados en ARN, tales como RNAscope y PCR cuantitativa.

Los métodos de detección descritos anteriormente se realizan generalmente junto con una muestra de referencia o control. En algunas realizaciones, la muestra de control es una sección de tejido normal correspondiente. En algunas realizaciones, la muestra de control o de referencia deriva de un sujeto que no está afectado por un tumor o cáncer que expresa GITR (p. ej., un sujeto sano). Dichas muestras pueden proporcionar una referencia normalizada para determinar la cantidad de células que expresan GITR en una muestra biológica.

Métodos de Pronóstico A modo de ejemplo

En el presente documento se divulgan métodos para identificar a un paciente con cáncer que es probable que responda a una inmunoterapia anti-GITR o para predecir si un paciente con cáncer responderá a la inmunoterapia anti-GITR que comprende:

(a) poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,

(b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en la muestra tumoral,

(c) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral indica que el tumor es un tumor GITR positivo y que es probable que o se predice que el paciente responda a la inmunoterapia anti-GITR. En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de GITR en células inmunitarias específicas, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos T, p. ej., linfocitos Treg, p. ej., en un tumor, se detecta o monitoriza y, p. ej., determina la probabilidad de respuesta de un sujeto a una terapia anti-GITR. En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de GITR en las células tumorales se detecta o monitoriza y, p. ej., determina la probabilidad de respuesta de un sujeto a una terapia anti-GITR.

El anticuerpo anti-GITR usado en los métodos de la presente invención es un anticuerpo que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR es un anticuerpo que comprende las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal. La detección de la expresión de GITR se realiza por

inmunohistoquímica, como se describe *supra*. En una realización, la inmunohistoquímica se combina con otro método de detección, p. ej., FISH. La muestra tumoral se prepara como secciones FFPE. Como alternativa, la muestra tumoral se prepara como secciones de tejido congelado.

5 En algunas realizaciones, un tumor se considera GTR positivo y es probable que se beneficie de la inmunoterapia anti-GTR si una muestra del tumor o las células inmunitarias en el mismo, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), p. ej., linfocitos Treg, tiene más células GTR positivas que un tejido normal o una célula inmunitaria correspondiente, p. ej., linfocitos T reg, del mismo paciente con cáncer.

10 En determinadas realizaciones, es probable que o se predice que el paciente con cáncer se beneficie de la inmunoterapia anti-GTR si el número de células GTR-positivas, p. ej., células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos T reg y/o células tumorales, en la muestra tumoral supera un nivel umbral. Un nivel de umbral puede ser el nivel más bajo de GTR determinado con un sistema de detección dado, p. ej.,

15 inmunohistoquímica, como se describe adicionalmente en el presente documento, tal como en los Ejemplos. En determinadas realizaciones, es probable que o se predice que el paciente con cáncer se beneficie de la inmunoterapia anti-GTR si el número de células GTR-positivas, p. ej., células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos T reg y/o células tumorales, en la muestra tumoral supera un número o proporción umbral usando un sistema de puntuación reconocido en la técnica descrito *supra*. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el número o la proporción de células GTR positivas supera un determinado número o proporción umbral usando un sistema de puntuación descrito en el presente documento y se define como "GTR positivo".

20 En determinadas realizaciones, una muestra tumoral que tenga al menos un 1%, por ejemplo, al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o al menos un 95 % de las células en el tumor, p. ej., células tumorales y/o células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tal como los linfocitos T reg, que expresan la proteína GTR se designa como "GTR-positiva" e indica que es probable que o se predice que el paciente con cáncer responda a la inmunoterapia anti-GTR.

30 En algunas realizaciones, se calcula una puntuación H para la muestra tumoral. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, una muestra tumoral con una puntuación H de al menos 5, tal como al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225, al menos 250, al menos 275 o al menos 290 se designa como "GTR positiva" e indica que es probable que o se predice que el paciente con cáncer responda a la inmunoterapia anti-GTR. La puntuación se puede calcular basándose en todas las células de un tumor o un tipo específico de células, p. ej., células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos Treg y/o células tumorales.

40 En algunas realizaciones, se calcula una puntuación Allred para la muestra tumoral. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, una muestra tumoral con una puntuación Allred de al menos 3, tal como al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 se designa como "GTR positiva" e indica que es probable que o se predice que el paciente con cáncer responda a la inmunoterapia anti-GTR. La puntuación se puede calcular basándose en todas las células de un tumor o un tipo específico de células, p. ej., células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos Treg y/o células tumorales.

45 En algunas realizaciones, se calcula una puntuación AQUA. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, una muestra tumoral con una puntuación AQUA de al menos 5, tal como al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225 o al menos 250 se designa como "GTR positiva" e indica que es probable que o se predice que el paciente con cáncer responda a la inmunoterapia anti-GTR. La puntuación se puede calcular basándose en todas las células de un tumor o un tipo específico de células, p. ej., células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos Treg y/o células tumorales.

50 En determinadas realizaciones, una combinación de uno de los sistemas de puntuación anteriores con otra modalidad de detección, tal como FISH, se usa para aumentar la precisión de determinar si un tumor es GTR positivo o GTR negativo.

55 En determinadas realizaciones, el paciente tiene un cáncer seleccionado del grupo que consiste en carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) escamoso, NSCLC no escamoso, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal (p. ej., carcinoma de células claras), cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón (p. ej., carcinoma de células renales (RCC, por sus siglas en inglés)), cáncer de próstata (p. ej., adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas, glioblastoma (glioblastoma multiforme), cáncer de cuello de útero, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon y cáncer (o carcinoma) de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfocito citolítico senonasal, melanoma (p. ej., melanoma maligno metastásico, tal

como melanoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer de huesos, cáncer de piel, cáncer de útero, cáncer de la región anal, cáncer de testículos, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, 5
cáncer de la uretra, cáncer del pene, tumores sólidos de la infancia, cáncer del uréter, carcinoma de la pelvis renal, neoplasia del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, angiogénesis tumoral, tumor del eje espinal, cáncer de cerebro, glioma del tronco cerebral, adenoma hipofisario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de linfocitos T, cánceres inducidos por el medio ambiente incluyendo aquellos inducidos por amianto, cánceres relacionados con virus o cánceres de origen vírico (p. ej., virus del papiloma humano (tumores 10
relacionados con u originados por el VPH)) y neoplasias hematológicas derivadas de cualquiera de los dos principales linajes de células sanguíneas, es decir, la línea celular mielóide (que produce granulocitos, eritrocitos, trombocitos, macrófagos y mastocitos) o línea celular linfoide (que produce linfocitos B, T, NK y células plasmáticas), tal como todos los tipos de leucemias, linfomas, y mielomas, p. ej., leucemias agudas, crónicas, linfocíticas y/o mielógenas, tales como leucemia aguda (ALL, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés), 15
leucemia linfocítica crónica (CLL, por sus siglas en inglés), y leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés), AML no diferenciada (M0), leucemia mieloblástica (M1), leucemia mieloblástica (M2; con maduración celular), leucemia promielocítica (M3 o variante de M3 [M3V]), leucemia mielomonocítica (M4 o variante de M4 con eosinofilia [M4E]), leucemia monocítica (M5), eritroleucemia (M6), leucemia megacarioblástica (M7), sarcoma granulocítico aislado y cloroma; linfomas, tal como linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés), linfoma no de Hodgkin (NHL, 20
por sus siglas en inglés), neoplasia hematológica de linfocitos B, p. ej., linfomas de linfocitos B, linfomas de linfocitos T, linfoma linfoplasmocitoide, linfoma de linfocitos B monocitoide, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT, por sus siglas en inglés), linfoma anaplásico de células grandes (p. ej., Ki 1+), linfoma/leucemia de linfocitos T en adultos, linfoma de células del manto, linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T, linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de linfocitos T, linfoma mediastinal de linfocitos B primario, linfoma linfoblástico de precursores T, T 25
linfoblástico; y linfoma/leucemia (T-Lbly/T-ALL), linfoma periférico de linfocitos T, linfoma linfoblástico, trastorno linfoproliferativo después del trasplante, linfoma histiocítico verdadero, linfoma primario del sistema nervioso central, linfoma de efusión primario, linfoma de linfocitos B, linfoma linfoblástico (LBL, por sus siglas en inglés), tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, leucemia linfoblástica aguda, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma histiocítico difuso (DHL, por sus siglas en inglés), linfoma inmunoblástico de células 30
grandes, linfoma linfoblástico de precursores B, linfoma cutáneo de linfocitos T (CTLC, por sus siglas en inglés) (también denominado micosis fungoide o síndrome de Sezary), y linfoma linfoplasmocitoide (LPL, por sus siglas en inglés) con macroglobulinemia de Waldenstrom; mielomas, tal como mieloma de IgG, mieloma de cadena ligera, mieloma no secretor, mieloma latente (también denominado mieloma indolente), plasmocitoma solitario, y mielomas múltiples, leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de células pilosas; tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, 35
tumores de origen mesenquimatoso, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; seminoma, teratocarcinoma, tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, schwannomas; tumores de origen mesenquimatoso, incluyendo fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma y osteosarcoma; y otros tumores, incluyendo melanoma, xeroderma pigmentoso, queratoacantoma, seminoma, cáncer folicular de tiroides y teratocarcinoma, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, por ejemplo, tumores de linfocitos T y linfocitos B, incluyendo, pero sin 40
limitación trastornos de linfocitos T tales como leucemia prolinfocítica T (T-PLL, por sus siglas en inglés), incluyendo del tipo de células pequeñas y de células cerebriformes; leucemia de linfocitos granulares grandes (LGL, por sus siglas en inglés) preferentemente del tipo de linfocitos T; linfoma hepatosplénico a/d T-NHL; linfoma de linfocitos T periférico/posttímico (subtipos pleomórfico e inmunoblástico); linfoma angiocéntrico (nasal) de linfocitos T; cáncer de cabeza o cuello, cáncer renal, cáncer rectal, cáncer de la glándula tiroides; linfoma mielóide agudo, así como cualquier 45
combinación de dichos cánceres. En determinadas realizaciones, el cáncer es un cáncer metastásico, cáncer refractario o cáncer recurrente.

Una vez que un paciente con cáncer se ha identificado como susceptible de beneficiarse de la inmunoterapia anti-GITR (es decir, tiene un tumor GITR positivo), el paciente se puede tratar con un anticuerpo terapéutico anti-GITR (es 50
decir, inmunoterapia anti-GITR).

En el presente documento se describen métodos para tratar a un paciente con cáncer con un tumor GITR positivo, como se determina por el nivel de expresión de la proteína GITR usando los anticuerpos anti-GITR y los métodos proporcionados en el presente documento, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente 55
eficaz de un anticuerpo anti-GITR o de una porción de unión a antígeno del mismo.

El anticuerpo anti-GITR usado para determinar el nivel de expresión de la proteína GITR puede ser un anticuerpo que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente, las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 60
y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano. La cadena pesada puede carecer de la lisina C-terminal. El anticuerpo puede ser un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), 65
p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. La cadena pesada del anticuerpo quimérico puede carecer de la lisina C-terminal.

La detección de la expresión de GITR puede realizarse por inmunohistoquímica, como se describe *supra*.

Un paciente con cáncer que se determina que tiene un tumor GITR positivo (es decir, células tumorales y/o células inmunitarias, GITR positivas, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tal como linfocitos T reg) usando los métodos descritos en el presente documento puede tratarse con cualquier agente que module la señalización de GITR (p. ej., un anticuerpo anti-GITR agonista) y dé como resultado, p. ej., la inducción y/o potenciación de la activación de los linfocitos T (p. ej., aumento de la producción de IL-2 y/o IFN- γ por linfocitos T y/o aumento de la proliferación de linfocitos T), agotamiento de linfocitos T reguladores, etc. En el presente documento se divulgan métodos para tratar a un paciente con cáncer que comprenden:

- (a) determinar si un tumor (células tumorales y/o células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tal como linfocitos Treg) de un paciente con cáncer es GITR positivo usando los métodos descritos en el presente documento, p. ej., poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano, detectar la unión del anticuerpo a GITR en la muestra y determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en la muestra, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral en células tumorales y/o células inmunitarias en el mismo, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tal como linfocitos Treg, indica que el tumor es GITR positivo y
- (b) si se determina que el tumor es GITR positivo, administrar después una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente que modula la señalización de GITR, p. ej., un agente que aumenta la IL-2, aumenta la producción de IFN- γ por los linfocitos T, y/o aumenta la proliferación de linfocitos T y/o el agotamiento de los linfocitos T reguladores.

Por ejemplo, el paciente se puede tratar con una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-GITR agonista divulgado en el documento WO15187835, p. ej., anticuerpos que tienen las CDR de la región variable de cadena pesada y ligera, regiones variables de cadena pesada y ligera o cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, y/o 6G10, y variantes de los mismos. Las secuencias de los anticuerpos divulgados en la Solicitud de Patente PCT N.º WO15187835 se proporcionan en la Tabla 2 (véanse las SEQ ID NO: 5-14 y 27-228). El paciente también se puede tratar con cualquier otro anticuerpo anti-GITR, p. ej., TRX518 (Leap Therapeutics), MK-4166 (Merck), LKZ-145 (Novartis), GWN-323 (Novartis Pharmaceuticals Corp.), Medi 1873 (MedImmune), INBRX-110 (Inhibrx), proteína GITR-Fc (OncoMed) y anticuerpos descritos en los documentos WO2006105021, WO2009009116, WO2011028683, US2014/0072565, US20140072566, US20140065152, WO2015031667, WO15184099, WO2015184099 o WO2016054638.

Métodos a modo de ejemplo de monitorización de tumores/cáncer GITR positivos

En el presente documento se proporcionan métodos para monitorizar un tumor o tumores que expresan GITR en un paciente con cáncer. Los métodos para la monitorización pueden realizarse de manera similar a los métodos para determinar si un paciente con cáncer es probable que responda a la inmunoterapia anti-GITR descrita anteriormente.

La presencia de GITR se puede monitorizar en tejidos completos, p. ej., tumores o en células específicas de los mismos. Por ejemplo, la presencia de GITR se puede monitorizar en células tumorales y/o en linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), p. ej., linfocitos T reg y linfocitos T eff.

La monitorización de la presencia (o expresión) de GITR puede comprender determinar la presencia de GITR en dos o más puntos temporales. Por ejemplo, se puede obtener una primera y una segunda muestra de tejido (y determinar la presencia y/o nivel de GITR) de un sujeto, en donde, p. ej., la primera y la segunda muestra de tejido se obtienen entre 3-7 días, 1 semana a 3 semanas o 1 mes a 3 meses entre una y otra. También se puede obtener una muestra de tejido para determinar la presencia y/o nivel de GITR cada semana o cada mes.

Por consiguiente, un método para monitorizar un tumor que expresa GITR en un paciente con cáncer puede comprender:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor) en un primer punto temporal usando un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en una muestra de tejido (p. ej., tumor, que puede ser el mismo tumor que el que se biopsió en el primer punto temporal) en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a), y
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor a partir del segundo punto temporal.

La presente invención proporciona un método para monitorizar un tumor GITR positivo en un paciente con cáncer que comprende:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal usando un anticuerpo que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal por inmunohistoquímica,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de regresión tumoral, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de progresión tumoral y un nivel relativamente sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de un tumor estable.

También se proporciona un método para monitorizar un tumor que expresa GITR en un paciente con cáncer que comprende:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en linfocitos Treg en una muestra de tejido (p. ej., tumor) en un primer punto temporal usando un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en linfocitos Treg en una muestra de tejido (p. ej., tumor, que puede ser el mismo tumor que el que se biopsió en el primer punto temporal) en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en los linfocitos Treg del segundo punto temporal.

También se proporciona un método para monitorizar un tumor que expresa GITR en un paciente con cáncer que comprende:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en linfocitos Teff en una muestra de tejido (p. ej., tumor) en un primer punto temporal usando un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en linfocitos Teff en una muestra de tejido (p. ej., tumor, que puede ser el mismo tumor que el que se biopsió en el primer punto temporal) en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en los linfocitos Teff del segundo punto temporal.

También se proporciona un método para monitorizar un tumor que expresa GITR en un paciente con cáncer que comprende:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en células tumorales en una muestra tumoral en un primer punto temporal usando un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en células tumorales en una muestra tumoral (que puede ser del mismo tumor que el que se biopsió en el primer punto temporal) en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en las células tumorales del segundo punto temporal.

En determinados métodos, la presencia y/o el nivel de GITR se determinan en linfocitos Treg y/o en linfocitos Teff y/o en células tumorales.

Un método para monitorizar un tumor que expresa GITR en un paciente con cáncer puede comprender:

- (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal usando un anticuerpo anti-GITR o una porción de unión a antígeno del mismo,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor del segundo punto temporal; y
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal.

La expresión de GITR puede determinarse en las células tumorales y/o en las células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tales como linfocitos T reg y/o linfocitos Teff dentro del tumor. Un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal puede ser indicativo de regresión tumoral, una

puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal puede ser indicativo de progresión tumoral y un nivel relativamente sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal puede ser indicativo de un tumor estable.

5 El anticuerpo anti-GITR usado para determinar el nivel de expresión de la proteína GITR de acuerdo con la presente invención es un anticuerpo que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR usado para determinar el nivel de expresión de la proteína GITR es un anticuerpo que comprende las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal. En una realización preferida, la detección de la expresión de GITR se realiza por inmunohistoquímica, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el nivel de expresión de la proteína GITR se determina usando un sistema de puntuación seleccionado del grupo que consiste en: el sistema de puntuación H, el sistema de puntuación Allred, un sistema AQUA® o un sistema de puntuación automatizado, tal como se describe en el presente documento.

Tales métodos de monitorización también son útiles para determinar si la inmunoterapia anti-GITR puede o no ser eficaz.

25 Por consiguiente, en el presente documento se divulgan métodos para monitorizar la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR en un paciente que tiene un tumor GITR positivo que comprende:

- 30 (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal antes o después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando un anticuerpo anti-GITR,
- (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor del primer punto temporal,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un segundo punto temporal después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando el mismo anticuerpo de la etapa (a),
- 35 (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor del segundo punto temporal;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal puede ser indicativo de inmunoterapia anti-GITR eficaz, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de inmunoterapia anti-GITR ineficaz y una puntuación sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal puede ser indicativo de que la inmunoterapia anti-GITR se está estabilizando. La expresión de GITR puede determinarse en las células tumorales y/o en las células inmunitarias, p. ej., linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), tal como los linfocitos T reg, dentro del tumor.

La presente invención proporciona un método para monitorizar la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR en un paciente que tiene un tumor GITR positivo que comprende:

- 45 (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal antes o después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando un anticuerpo que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente,
- 50 (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el primer punto temporal por inmunohistoquímica,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un segundo punto temporal después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando el mismo anticuerpo de la etapa (a),
- 55 (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de inmunoterapia anti-GITR eficaz, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de inmunoterapia anti-GITR ineficaz y una puntuación sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de que la inmunoterapia anti-GITR se está estabilizando.

65 El anticuerpo anti-GITR usado para determinar el nivel de expresión de la proteína GITR de acuerdo con la presente invención es un anticuerpo que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR

usado para determinar el nivel de expresión de la proteína GITR es un anticuerpo que comprende las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 (un anticuerpo anti-GITR completamente humano) expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo 6G10 quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal. En una realización preferida, la detección de la expresión de GITR se realiza por inmunohistoquímica, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el nivel de expresión de la proteína GITR se determina usando un sistema de puntuación seleccionado del grupo que consiste en: el sistema de puntuación H, el sistema de puntuación Allred, un sistema AQUA® o un sistema de puntuación automatizado, tal como se describe en el presente documento.

En determinadas realizaciones, la inmunoterapia anti-GITR comprende administrar al paciente con cáncer una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-GITR divulgado en el documento WO15187835, p. ej., anticuerpos que tienen las CDR de la región variable de cadena pesada y ligera, regiones variables de cadena pesada y ligera o cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, y/o 6G10, y variantes de los mismos. Las secuencias de los anticuerpos divulgados en la Solicitud de Patente PCT N.º WO15187835 se proporcionan en la Tabla 2 (véanse las SEQ ID NO: 5-14 y 27-228). El paciente también se puede tratar con cualquier otro anticuerpo anti-GITR, p. ej., TRX518 (Leap Therapeutics), MK-4166 (Merck), LKZ-145 (Novartis), GWN-323 (Novartis Pharmaceuticals Corp.), Medi 1873 (Med-Immune), INBRX-110 (Inhibrx), proteína GITR-Fc (OncoMed) y anticuerpos descritos en los documentos WO2006105021, WO2009009116, WO2011028683, US2014/0072565, US20140072566, US20140065152, WO2015031667, WO15184099, WO2015184099 o WO2016054638.

En determinadas realizaciones, el estado de un tumor que expresa GITR se puede monitorizar de forma repetida después del diagnóstico inicial (es decir, después de determinar que el tumor es GITR positivo), tal como un mes después del diagnóstico inicial, dos meses después del diagnóstico inicial, tres meses después del diagnóstico inicial, cuatro meses después del diagnóstico inicial, cinco meses después del diagnóstico inicial, seis meses después del diagnóstico inicial, un año después del diagnóstico inicial, etc. En otras realizaciones, la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR contra un tumor que expresa GITR se puede monitorizar de manera repetida después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR, tal como un mes después del inicio de la terapia, dos meses después del inicio de la terapia, tres meses después del inicio de la terapia, cuatro meses después del inicio de la terapia, cinco meses después del inicio de la terapia, seis meses después del inicio de la terapia, un año después del inicio de la terapia, etc.

Kits de Diagnóstico

En el presente documento se proporcionan kits que incluyen los anticuerpos de diagnóstico anti-GITR descritos en el presente documento y las instrucciones de uso. El kit de la invención comprende un anticuerpo que comprende las secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 5-7 y 8-10, respectivamente, e instrucciones de uso. En algunas realizaciones, el kit comprende un anticuerpo que comprende las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une de manera específica a GITR humano o las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa del anticuerpo 6G10 expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada carece de la lisina C-terminal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-GITR es un anticuerpo quimérico que comprende las regiones variables del anticuerpo 6G10, pero regiones constantes no humanas (p. ej., regiones constantes de ratón), p. ej., un anticuerpo quimérico que comprende las secuencias de cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la cadena pesada del anticuerpo quimérico carece de la lisina C-terminal. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende un marcador detectable, p. ej., un conjugado anticuerpo-marcador. Dichos kits pueden comprender al menos un reactivo adicional. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, los kits comprenden tampones, estabilizantes, sustratos, reactivo de inmunodetección (p. ej., anticuerpos secundarios para su uso en inmunohistoquímica) y/o cofactores necesarios para el ensayo. En determinadas realizaciones, el anticuerpo y, opcionalmente, los reactivos, están adecuadamente divididos en partes alícuotas. En determinadas realizaciones, el kit comprende un medio para obtener la muestra biológica de un paciente con cáncer. Tales medios pueden comprender, por ejemplo, reactivos que se pueden usar para obtener muestras de líquido o tejido del paciente con cáncer.

La presente divulgación se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Generación del anticuerpo 6G10

El anticuerpo anti-GITR 6G10 humano se generó durante el curso de la inmunización de ratones transgénicos HuMAb® ("HuMAb" es una marca comercial de Medarex, Inc., Princeton, Nueva Jersey) y ratones KM (la cepa KM Mouse® contiene el transcromosoma SC20 como se describe en la Publicación PCT WO 02/43478) y la exploración de fusiones de anticuerpos que se unieron a GITR (véase la Solicitud PCT n.º PCT/US15/33991, presentada al mismo tiempo). La secuenciación del ADNc identificó una cadena pesada y una ligera para el anticuerpo 6G10. Las secuencias de aminoácidos de la región variable y el isotipo del anticuerpo 6G10 se exponen en las Figuras 1-4 y en la Tabla 2.

Ejemplo 2: Propiedades de unión del anticuerpo 6G10

Biacore determinó la unión del anticuerpo 6G10 a GITR soluble. El anticuerpo 6G10 se capturó en chips recubiertos con kappa humana (~ 5KRU; Southernbiotech) y el GITR humano recombinante (rHGITR/Fc: Los sistemas de I + D) fluyó a través del chip a concentraciones de 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62 nM y 31 nM. La concentración de captura del anticuerpo/volumen fue de 2-40 µg/ml (5 µl a 10 µl/ min). El tiempo de asociación del antígeno fue de 5 minutos a 15 µl/ min, el tiempo de disociación del antígeno fue de 6 minutos y la regeneración se realizó con HCl 50 mM/NaOH 50 mM (12 µl cada uno a 100 µl/ min). El 6G10 exhibió una K_D de $1,87 \times 10^{-9}$ M para unirse a GITR humano soluble, con una k_a de $3,83 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y una k_d de $7,15 \times 10^{-4}\text{s}^{-1}$.

Ejemplo 3: Inmunohistoquímica del tejido canceroso con un anticuerpo quimérico 6G10

Se utilizaron dos técnicas de inmunohistoquímica (IHC, por sus siglas en inglés) para detectar GITR en secciones de tejido: un método IHC se realizó en secciones de tejido fijadas con formol embebidas en parafina (FFPE) y el otro se realizó en secciones de tejido congelado.

Se han probado varios anticuerpos anti-GITR en estos métodos IHC y 6G10 fue consistentemente mejor.

Para detectar la expresión de GITR en tejidos humanos, se preparó una forma marcada con fluoresceína del anticuerpo 6G10 y se designó 6G10-FITC. Para seguir desarrollando un método fácil y clínico, el anticuerpo 6G10 se modificó por ingeniería en un formato IgG2a quimérico de ratón y se optimizó para inmunohistoquímica automatizada usando la plataforma Leica BondRX. Las secuencias de cadena pesada y ligera del anticuerpo quimérico 6G10 se exponen en las Figuras 5 y 6, respectivamente, y en la Tabla 2. La cadena pesada puede o no contener una lisina C-terminal.

Brevemente, los portaobjetos se desparafinaron y rehidrataron siguiendo procedimientos histológicos habituales, y se sometieron a HIER (recuperación de antígeno inducida por calor) de forma manual con tampón de recuperación diana de pH6 (Dako) durante 10 minutos a 110 °C usando la Cámara Decloaking (BioCare Medical). Los portaobjetos se cargaron después en el teñidor de inmunohistoquímica automático BondRX de Leica. Las secciones de tejido se incubaron con el anticuerpo quimérico 6G10 a 0,5 µg/ml durante 60 minutos, seguido de la detección con el sistema de detección Bond Polymer Refine de Leica (DS9800) siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, las secciones de tejido se incubaron con un enlazador anti-ratón de conejo (Leica) durante 30 minutos y el polímero Novolink Max (Leica) durante 30 minutos. Finalmente, los portaobjetos se hicieron reaccionar con una solución de sustrato DAB- cromógeno durante 6 minutos. Los portaobjetos se tiñeron después con hematoxilina de Mayer, se deshidrataron, se aclararon y se taparon con un cubreobjetos con Permount después del procedimiento histológico habitual. Se usó el bloque de proteína Dako complementado con Hu-gamma-globulinas al 0,5 % (Sigma) para bloquear la unión no específica y PBS complementado con gammaglobulinas humanas al 0,5 % y se usó BSA al 0,5 % como diluyente para los anticuerpos tanto primarios como secundarios.

Para hacer un perfil de los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), se usaron anticuerpos monoclonales comerciales para CD3 (marcador de linfocitos T) y FoxP3 (marcador de linfocitos T reguladores) para teñir secciones adyacentes. Como anticuerpos de control negativo, se usaron IgG2a anti-KLH humana quimérica de ratón modificada por ingeniería propia e IgG1 de ratón comercial. Se usaron como controles positivos células HEK-293T que expresan GITR humano de manera estable y secciones de tejido de amígdalas hiperplásicas humanas. Se compraron muestras de tejido FFPE de 5 tipos de tumores de proveedores de tejidos comerciales, con 13-26 casos para cada tipo de tumor.

Después de la inmunotinción, los portaobjetos se examinaron con un microscopio óptico. Para la puntuación de GITR y TIL, se realizó un análisis automatizado y cuantitativo usando el programa informático de análisis por imágenes Aperio® ScanScope y HALO™ en el portaobjetos completo. Se tomaron imágenes representativas con Aperio ScanScope o con la cámara de microscopio digital Olympus DP71.

La Tabla 1 resume la distribución de los TIL GITR positivos en carcinoma de cuello de útero (CC, por sus siglas en inglés), melanoma (Mel), carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés), carcinoma colorrectal (CRC, por sus siglas en inglés) y carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC, por sus siglas en inglés). Una puntuación manual de 13 a 26 casos mediante la estimación del número de células positivas con un objetivo de microscopio de 20x. Mínima, < 1 células por campo de objetivo de 20x; Leve, 1 ~ < 10 células por campo de objetivo de 20x; Moderada, 10- < 50 células por campo de objetivo de 20x; Acentuada, 50 ~ < 200 células por objetivo de 20x; Intensa, > 200 células por campo de objetivo de 20x. Al menos 1/3 de toda la sección del tumor cumplió con los criterios anteriores.

Tabla 1.

Intensidad de tinción	Carcinoma de cuello de útero (n=24)	Melanoma (n=17)	Carcinoma hepatocelular (n=25)	Carcinoma colorrectal (n=26)	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (n=13)
Mínima	0 %	6 %	8 %	12 %	15 %
Leve	0 %	24 %	16 %	15 %	23 %
Moderada	58 %	29 %	36 %	46 %	38 %
Acentuada	33 %	29 %	40 %	27 %	24 %
Intensa	8 %	12 %	0 %	0 %	0 %

5 En la amígdala hiperplásica, se distribuyeron células positivas fuertes dispersas en la región interfolicular y el centro germinal, así como linfocitos infiltrantes dispersos por el epitelio. Hubo una tendencia a distribuir más células positivas en grupos focales de MNC debajo del epitelio. Los TIL CD3+ estaban presentes en todas las muestras de cáncer examinadas, aunque la cantidad varió entre los cánceres y la distribución dentro del mismo tejido fue heterogénea. Los TIL CD8+ estaban presentes en la gran mayoría de los tejidos. En los cánceres múltiples examinados, la tinción GTR positiva estuvo presente en una pequeña fracción de TIL. En general, la abundancia de células GTR + fue proporcional a la de los TIL. Los TIL GTR positivos fueron abundantes en el carcinoma de cuello de útero (CC), melanoma (Mel) y carcinoma hepatocelular (HCC), y también se observó alguna tinción en el carcinoma colorrectal (CCR) y en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), entre los cuales el carcinoma de cuello de útero de células escamosas mostró la tinción más abundante.

15 También se observó tinción GTR positiva en células tumorales en NSCLC (carcinoma de pulmón no microcítico), CC, HNSCC y HCC (Figura 7). En NSCLC y CC, la especificidad de la tinción se confirmó por el desplazamiento completo de la tinción tras la incubación con proteína de fusión GTR.

20 La inmunohistoquímica también se realizó en muestras de tejido congelado. Las secciones de criostato a 5 µm se fijaron con acetona durante 10 minutos y se inmunotizaron usando un método de inmunoperoxidasa indirecta a temperatura ambiente. Para la tinción con anticuerpo monoclonales de CD3 (marcador de linfocitos T), CD8 (marcador de linfocitos T citotóxicos) y FoxP3 (marcador de linfocitos T reguladores), los portaobjetos se fijaron adicionalmente con NBF al 10 % durante 2 minutos. Para la tinción con 6G10-FITC y HulG2-FITC, los portaobjetos se sumergieron en NBF al 10 % durante 1 minuto. El bloque de peroxidasa suministrado con el sistema EnVision+ y el bloque de proteína Dako complementado con gammaglobulinas humanas al 0,5 % se usaron para determinar la actividad de peroxidasa endógena y los bloques de unión no específicos, respectivamente. Se aplicaron anticuerpos primarios (6G10-FITC a 5 µg/ml, CD3 a 1:100, CD8 a 1:100 o FoxP3 a 5 o 10 µg/ml) o un anticuerpo de control de isotipo (HulG2-FITC a 5 µg/ml) a las secciones y se incubaron durante 1 hora. El sistema EnVision+ para IgG de ratón o conejo se usó como sistema de detección. Para 6G10-FITC y su control de isotipo HulG2-FITC, se usó anticuerpo anti-FITC de conejo (5 µg/ml) como anticuerpo puente. Finalmente, los portaobjetos se hicieron reaccionar con la solución de sustrato DAB- cromógeno durante 6 minutos y después se contratiñeron con hematoxilina de Mayer, se deshidrataron, se aclararon y se taparon con un cubreobjetos con Permount usando procedimientos histológicos habituales. Para los anticuerpos monoclonales de CD3, CD8 y FoxP3, se usó el bloque de proteína Dako como diluyente, mientras que para 6G10-FITC y HulG2-FITC, se usó PBS complementado con gammaglobulinas humanas al 0,5 % y se usó BSA al 0,5 % como diluyente para los anticuerpos primarios y secundarios. Se adquirieron muestras de tejido congelado de 3 tipos de tumores de proveedores de tejidos comerciales.

40 Se observaron diferentes cantidades de TIL GTR+ en los 3 tipos de tumores. FoxP3 estaba presente en un pequeño subconjunto de TIL. También se observó la tinción de un subconjunto de células tumorales con el anticuerpo anti-GTR, y la especificidad de la tinción se confirmó por el desplazamiento completo de la tinción tras la incubación con la proteína de fusión GTR. La presencia de ARNm de GTR en células tumorales GTR también se observó mediante RNAscope en las secciones congeladas, lo que confirma adicionalmente los resultados de IHC.

45 Estos resultados indican que el anticuerpo anti-GTR 6G10 puede detectar eficazmente la proteína GTR humana en muestras de tejido fijadas y congeladas.

Tabla 2: Tabla sumario de secuencias

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
1	isoforma 1 de G1TR humano	MAQHGMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLG TGT DARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDP CCTTCRHHP CPPGQGVQSOGKFSFGFQCIDCASGTFSSGGHEG HCKPWTDCTQFGFLTVPFGNKTHNAVCPGSPPAEPLGWLTV VLLAVAACVLLLTSAQLGLHIWQLRSQCMWPRETQLLLEVP STEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRLGDLWV
2	isoforma 2 de G1TR humano	MAQHGMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLG TGT DARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDP CCTTCRHHP CPPGQGVQSOGKFSFGFQCIDCASGTFSSGGHEG HCKPWTDCCWRCRRRPKTPEAASSPRKSGASDRQRRRGWET CGCEPGRPPGPPTAASPSPGAPQAAGALRSALGRALLPWQOK WVQEGGSDQRPGPCSSAAAAGPCRRERETQSWPPSSLAGPDG VGS
3	isoforma 3 de G1TR humano	MAQHGMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLG TGT DARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDP CCTTCRHHP CPPGQGVQSOGKFSFGFQCIDCASGTFSSGGHEG HCKPWTDCTQFGFLTVPFGNKTHNAVCPGSPPAEPLGWLTV VLLAVAACVLLLTSAQLGLHIWQLRKTQLLLEVPSTEDARS CQFPEEERGERSAEEKGRLGDLWV
4	porción extracelular de G1TR humano maduro	QRPTGGPGCGPGRLLLG TGT DARCCRVHTTRCCRDYPGEECC SEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHHP CPPGQGVQSOGKFSFG FQCIDCASGTFSSGGHEGHCKPWTDCTQFGFLTVPFGNKTHNA VCVPGSPPAEP
5	CDR1 de VH de 6G10	TYGMH
6	CDR2 de VH de 6G10	VTWYAGSNKFYADSVKG
7	CDR3 de VH de 6G10	GGSMVRGLYYYYGMDV
8	CDR1 de VL de 6G10	RASQGISSALA
9	CDR2 de VL de 6G10	DASSLES
10	CDR3 de VL de 6G10	QQFN SYPYT
11	VH 6G10	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPG KGLEWVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGGSMVRGLYYYYGMDVWGQTTVTVSS
12	VL 6G10	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIK

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
13	Cadena pesada de longitud completa de 6G10	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSRLRSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPG KGLEWVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGT TTVTVSSAS <u>TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG</u> <u>ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVD</u> <u>HKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKD</u> <u>TLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP</u> <u>REEQFNSTFRVVSVLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE</u> <u>KTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGSSFFLYSKLTVDKSRW</u> <u>QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u></p>
14	Cadena ligera de longitud completa de 6G10	<p>AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK <u>SGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS</u> <u>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN</u> <u>RGEC</u></p>
15	cadena pesada de longitud completa de anticuerpo quimérico 6G10 La región constante está subrayada	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSRLRSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPG KGLEWVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGT TTVTVSSAK <u>TTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG</u> <u>SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH</u> <u>PASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPP</u> <u>KIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA</u> <u>QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLF</u> <u>APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKQVTLTCMVTD</u> <u>FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVE</u> <u>KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK</u></p>
16	cadena ligera de longitud completa de anticuerpo quimérico 6G10 La región constante está subrayada	<p>AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLT <u>SGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS</u> <u>KDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN</u> <u>RNEC</u></p>
17	Secuencia de nucleótidos de 6G10 (VH)	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAG CGTCTGGATTACCTTCAGTACCTATGGCATGCAC TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTG GGTGGCAGTTACATGGTATGCTGGAAGTAATAAAT TTTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCGAGAGGAGGTAGTATGGTTCGGGGA CTTTATTATTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCA</p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
18	Secuencia de nucleótidos de 6G10 (VL)	<p>GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGG TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCT GATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTTCCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGA TTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAATAGTT ACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA</p>
19	<p>Secuencia de nucleótidos de 6G10 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La secuencia que codifica la región constante está subrayada</p>	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCT GGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCAAC TTCAGTACCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGC AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTACATGGTATGCTGGAAGT AATAAATTTTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GGAGGTAGTATGGTTCGGGGACTTTATTATTACGGTATGGAC GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC <u>ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGG</u> <u>AGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG</u> <u>GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGC</u> <u>GCTCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCAGCTGTCTTACAG</u> <u>TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC</u> <u>TCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGAT</u> <u>CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC</u> <u>AAATGTTGTGTCGAGTGGCCACCGTGGCCAGCACCACTGTG</u> <u>GCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGAC</u> <u>ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTG</u> <u>GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGG</u> <u>TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCA</u> <u>CGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAAGGTC</u> <u>CTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC</u> <u>AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCGAG</u> <u>AAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG</u> <u>GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC</u> <u>CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGC</u> <u>GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC</u> <u>AACTACAAGACCACACTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCC</u> <u>TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG</u> <u>CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT</u> <u>CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG</u> <u>GGTAAA</u></p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
20	<p>Secuencia de nucleótidos 6G10 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa)</p> <p>La secuencia que codifica la región constante está subrayada</p>	<p>GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGC ATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA GCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTRACTTCCACATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA ACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGTACACTTTT GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCA <u>CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA</u> <u>TCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT</u> <u>CCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTC</u> <u>CAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGC</u> <u>AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGC</u> <u>AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC</u> <u>ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC</u> AGGGGAGAGTGT</p>
21	<p>cadena pesada 6G10 quimérica La secuencia que codifica la región constante está subrayada</p>	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCT GGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCC TTCAGTACCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGC AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTACATGGTATGCTGGAAGT AATAAATTTTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GGAGGTAGTATGGTTCGGGGACTTTATTATTACGGTATGGAC GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCAAA <u>ACAACAGCCCCATCGGTCTATCCGCTAGCCCCCTGTGTGTGGA</u> <u>GATACAACCTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATGCCTGGTCAAG</u> <u>GGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGAAGTCTGGA</u> <u>TCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCAGCTGTCTCTGCAG</u> <u>TCTGACCTCTACACCCTCAGCAGCTCAGTGAATGTAACCTCG</u> <u>AGCACCTGGCCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCAC</u> <u>CCGGCAAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGAGCCCAGA</u> <u>GGGCCCACAATCAAGCCCTGTCTCCATGCAAAATGCCAGCA</u> <u>CCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCA</u> <u>AAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTC</u> <u>ACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTC</u> <u>CAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCT</u> <u>CAGACACAAACCCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGG</u> <u>GTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGT</u> <u>GGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCA</u> <u>GCGCCCATCGAGAGAACCATCTCAAACCCAAAGGGTCAGTA</u> <u>AGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCCTCCACCAGAAGAAGAG</u> <u>ATGACTAAGAAACAGGTCACCTCTGACCTGCATGGTTCACAGAC</u> <u>TTTATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGG</u> <u>AAAACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCTCTGGAC</u> <u>TCTGATGGTTCTTACTTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAA</u> <u>AAGAAGAACTGGGTGGAAAGAAATAGCTACTCCTGTTTCAGTG</u> <u>GTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAGCTTC</u> <u>TCCCGGACTCCGGTAAATGA</u></p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
22	cadena ligera quimérica 6G10 La secuencia que codifica la región constante está subrayada	<p>GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGC ATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA GCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCATCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA ACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGTACACTTTT GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGGCTGATGCTGCA <u>CCAACGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAATTGACA</u> <u>TCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACCTTCTAC</u> <u>CCCAAAGACATCAATGTCAAGTGAAGATTGATGGCAGTGAA</u> <u>CGACAAAATGGCGTCTGAACAGTTGGACCGATCAGGACAGC</u> <u>AAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCTCACGTTGACC</u> <u>AAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCC</u> <u>ACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAAC</u> <u>AGGAATGAGTGTAG</u></p>
23	región constante de cadena pesada de IgG2 humana	<p>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSSFFLYSKLTVDKLS RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
24	región constante de cadena ligera kappa humana	<p>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
25	región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón	<p>AKTTAPSVMYPLAPVCGDITGSSVTLGLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVTHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKEIPIRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI PPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVH TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEFKCKVNNKD LPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSVVEHGLHNHHTTKFSRTPGK</p>
26	región constante de cadena ligera de kappa de ratón	<p>RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFFYPKDIVKWK IDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLKDEYERHNS YTCEATHKTTSTPIVKSFNRNEC</p>
27	28F3 (VH)	<p>QVQLVESGGGVQPRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEW VAVIWEYSNRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGDIYGMVWGQGTITVTVSS</p>
28	28F3 (VL)	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITTCRASQGISALAWYQQKPKGAPKLL IYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQFNSY PYTFGQGTKLEIK</p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
29	28F3 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWYEGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR S</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCV ECP PCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
30	28F3 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>AIQLTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYDASSLES GVP SRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQFN SY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTL SKADY EK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
31	28F3.IgG1 (VH + IgG1)	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWYEGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS</u> <u>TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP</u> <u>CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF</u> <u>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK</u> <u>VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV</u> <u>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
32	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWYEGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS</u> <u>TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP</u> <u>CPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF</u> <u>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK</u> <u>VSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV</u> <u>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
33	28F3.IgG1 (VL + CL)	<u>AIQLTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYDASSLES GVP SRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQFN SY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTL SKADY EK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
34	CDR1 de VH de 28F3	SYGMH
35	CDR2 de VH de 28F3	VIWYEGSNKYADSVKG
36	CDR3 de VH de 28F3	GGSMVRGDYYYGMDV
37	CDR1 de VL de 28F3	RASQGISSALA
38	CDR2 de VL de 28F3	DASSLES
39	CDR3 de VL de 28F3	QQFN SYPY T

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
40	28F3 (VH + G2 (C219S)) o 28F3-IgG2-C219S	<p> <u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKSCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
41	28F3 (VH + G2.g1) o 28F3-IgG2-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
42	28F3 (VH + G2.g1.1) o 28F3-IgG2-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
43	28F3 (VH + G2(C219S).g1) o 28F3-IgG2-C219S-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKSCVECPPCA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
44	28F3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 28F3-IgG2-C219S-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKSCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
45	28F3 (VH) (SEQ ID NO: 13) con péptido señal El péptido señal está subrayado	<u>MRAWIFFLLCLAGRALA</u> QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYVYGMVWVGQGT TVTSS
46	28F3 (VL) (SEQ ID NO: 14) con péptido señal El péptido señal está subrayado	<u>MRAWIFFLLCLAGRALAAI</u> QLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIS SALAWYQQKPKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGGQTKLEIK
47	28F3.IgG1 (VH + IgG1) con péptido señal El péptido señal y la región constante están subrayados	<u>MRAWIFFLLCLAGRALA</u> QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYVYGMVWVGQGT TVTSS <u>ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV</u> <u>DKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPE</u> <u>VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV</u> <u>LTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL</u> <u>PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD</u> <u>SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
48	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1) con péptido señal El péptido señal y la región constante están subrayados	<u>MRAWIFFLLCLAGRALA</u> QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYVYGMVWVGQGT TVTSS <u>ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV</u> <u>DKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPE</u> <u>VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV</u> <u>LTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL</u> <u>PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD</u> <u>SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
49	28F3.IgG1 (VL+CL) con péptido señal El péptido señal y la región constante están subrayados	<u>MRAWIFFLLCLAGRALAAI</u> QLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIS SALAWYQQKPKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGGQTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ <u>LKSGTASVVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TYSLSSLTITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
50	19D3 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYGFHWVRQAPGKLEW VAVIWIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDYVYVMDVWVGQGTTVTSS
51	19D3 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGGQTKLEI K
52	19D3 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYGFHWVRQAPGKLEW VAVIWIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDYVYVMDVWVGQGTTVTSS <u>ASTKGPSVFLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPKNTKVDKTKVERKCCVCPCCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDS</u> <u>SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
53	19D3 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLA</u> <u>WYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SSLQPEDFATYYCQQYNSY</u> <u>PYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLNNFYF</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TYLSSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
54	19D3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGSGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY Y YVMDVWGQGT T TVVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS G VHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSCDKTHTCTCP PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI S RTP E VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD W LNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK N QVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK T TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNV F SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
55	19D3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGSGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY Y YVMDVWGQGT T TVVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS G VHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSCDKTHTCTPC PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI S RTP E VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD W LNGKEYKCKV SNKALPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK N QVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK T TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNV F SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
56	19D3.IgG1 (VL + CL)	<u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLA</u> <u>WYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SSLQPEDFATYYCQQYNSY</u> <u>PYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLNNFYF</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TYLSSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
57	CDR1 de VH de 19D3	SYGFH
58	CDR2 de VH de 19D3	VIWYAGSNKFYADSVKG
59	CDR3 de VH de 19D3	GGQLDY Y YVMDV
60	CDR1 de VL de 19D3	RASQGISWLA
61	CDR2 de VL de 19D3	AASSLQS
62	CDR3 de VL de 19D3	QQYNSPYT
63	19D3 (VH + G2(C219S)) o 19D3-IgG2-C219S	QVQLVESGSGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY Y YVMDVWGQGT T TVVSSASTKGPSVFPLAPCSRST <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
64	19D3 (VH + G2.g1) o 19D3-IgG2-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGQLDYIIYYVMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
65	19D3 (VH + G2.g1.1) o 19D3-IgG2-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGQLDYIIYYVMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA</u> <u>LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
66	19D3 (VH + G2(C219S).g1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGQLDYIIYYVMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
67	19D3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGQLDYIIYYVMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA</u> <u>LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
68	19D3 (VH + G2(C219S)) o 19D3-IgG2-C219S	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGQLDYIIYYVMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
69	19D3 (VH + G2.g1) o 19D3-IgG2-IgG1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY YYYVMDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
70	19D3 (VH + G2.g1.1) o 19D3-IgG2-IgG1.1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY YYYVMDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
71	19D3 (VH + G2(C219S).g1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY YYYVMDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
72	19D3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1.1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLEW VAVIWIYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGQLDY YYYVMDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
73	18E10 (VH)	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGT TTVTVSS</p>
74	18E10 (VL)	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLA WYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQYNSY PYTFGQGTKLEIK</p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
75	18E10 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPKNTKVDKTKVERKCCVECPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
76	18E10 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
77	18E10.IgG1 (VH + IgG1)	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST</u> <u>SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPC</u> <u>PAPELLGGPSVFLF</u> <u>PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE</u> <u>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV</u> <u>SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK</u> <u>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRW</u> <u>QQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
78	18E10.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST</u> <u>SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPC</u> <u>PAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN</u> <u>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV</u> <u>SNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK</u> <u>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRW</u> <u>QQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
79	18E10.IgG1 (VL + CL)	<u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
80	CDR1 de VH de 18E10	SYGMH
81	CDR2 de VH de 18E10	VIWYAGSNKYADSVKGG
82	CDR3 de VH de 18E10	GGRIAVAFYYSMDV
83	CDR1 de VL de 18E10	RASQGISSWLA
84	CDR2 de VL de 18E10	AASSLQS
85	CDR3 de VL de 18E10	QQYNSYPY

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
86	18E10 (VH + G2(C219S)) o 18E10-IgG2-C219S	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKSCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYK TTPM L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
87	18E10 (VH + G2.g1) o 18E10-IgG2-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
88	18E10 (VH + G2.g1.1) o 18E10-IgG2-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA</u> <u>LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYK TTPV L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
89	18E10 (VH + G2(C219S).g1) o 18E10-IgG2-C219S-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKSCVECP PCPAP</u> <u>ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK TTPV L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
90	18E10 (VH + G2(C219S).g1.1) o 18E10-IgG2-C219S-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWIYAGSNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGRIAVAFYYSDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST</u> <u>SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL</u> <u>SSVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKSCVECP PCPAP</u> <u>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA</u> <u>LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYK TTPV L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</u> <u>VFSC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
91	3C3 (VH)	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW IGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY CARLGAFDAFDIWGGQTMVTVSS
92	3C3 (VL1)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYNSY PYTFGQGTKLEIK
93	3C3 (VL2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRTGIPARFSGSGPGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNW HTFGQGTKLEIK
94	3C3 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW IGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY CARLGAFDAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPCPAPELL</u> <u>GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV</u> <u>EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP</u> <u>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u> <u>SCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</u>
95	3C3 L1 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 1) La región constante está subrayada	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYNSY PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
96	3C3 L2 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 2) La región constante está subrayada	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRTGIPARFSGSGPGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNW HTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP <u>EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEK</u> <u>KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
97	3C3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW IGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY CARLGAFDAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPCPAPELL GGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
98	3C3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW IGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY CARLGAFDAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPCPAPEAE GAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP <u>SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u> <u>SCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG</u>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
99	3C3.IgG1 (VL1 + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRF'SGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYNSY PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
100	3C3IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRTGIPARF'SGSGPGTDFLTITISLQPEDF'AVYYCQQRSNW HTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
101	CDR1 de VH de 3C3	GYWT
102	CDR2 de VH de 3C3	KINHSNTNYNPSLKS
103	CDR3 de VH de 3C3	LGAFDAFDI
104	CDR1 de VL1 3C3	RASQGISSWLA
105	CDR2 de VL1 3C3	AASSLQS
106	CDR3 de VL1 3C3	QQYNSYPY
107	CDR1 de VL2 3C3	RASQGVSSYLA
108	CDR2 de VL2 3C3	DASNRT
109	CDR3 de VL2 3C3	QQRSNWHT
110	3C3 (VH + G2) o 3C3-IgG2	<u>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKLEW</u> <u>IGKINHSNTNYNPSLKSRTISVDT'SKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPS</u> <u>VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE</u> <u>KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
111	3C3 (VH + G2(C219S)) o 3C3-IgG2-C219S	<u>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKLEW</u> <u>IGKINHSNTNYNPSLKSRTISVDT'SKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPAPPVAGPS</u> <u>VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE</u> <u>KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
112	3C3 (VH + G2.g1) o 3C3-IgG2-IgG1	<p> <u>QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW</u> <u>IGKINHSGNTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPELGGP</u> <u>SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV</u> <u>EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS</u> <u>VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
113	3C3 (VH + G2.g1.1) o 3C3-IgG2-IgG1.1	<p> <u>QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW</u> <u>IGKINHSGNTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPELGGP</u> <u>SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
114	3C3 (VH + G2(C219S).g1) o 3C3-IgG2-C219S-IgG1	<p> <u>QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW</u> <u>IGKINHSGNTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPELGGP</u> <u>SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV</u> <u>EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS</u> <u>VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
115	3C3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 3C3-IgG2-C219S-IgG1.1	<p> <u>QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLEW</u> <u>IGKINHSGNTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY</u> <u>CARLGAFDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV</u> <u>PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPELGGP</u> <u>SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
116	2G6 (VH)	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI LSDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT VTVSS</u> </p>
117	2G6 (VL)	<p> <u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIS SWLAWYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTI SSLQPEDFATYYCQQYNSY</u> <u>PYTFGQGTKLEIK</u> </p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
118	2G6 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u> <u>LS</u> <u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u> <u>DNSKNTLYLQMN</u> <u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u> <u>DHKPSNTKVDK</u> <u>TVERKCCVECP</u> <u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPPKPDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDV</u> <u>SHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV</u> <u>SVLTVVHQD</u> <u>WLN</u> <u>NGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTI</u> <u>SKTKGQPREPQVY</u> <u>TLPPSREEMTK</u> <u>QVSLTCLVKG</u> <u>FY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TPPMLDSDGS</u> <u>FFLYSKL</u> <u>TVDKSRW</u> <u>QQG</u> <u>NVFSCSVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>SLSPGK</u>
119	2G6 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>DIQMTQSPSSLSASV</u> <u>GDRTITCRASQGI</u> <u>SSWLA</u> <u>WYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF</u> <u>TLTISSLQPEDF</u> <u>ATYYCQ</u> <u>QYNSY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPS</u> <u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLN</u> <u>NFY</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQES</u> <u>VT</u> <u>EQDSK</u> <u>DSTYLS</u> <u>SSTLTL</u> <u>SKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR</u> <u>GEC</u>
120	2G6.IgG1 (VH + IgG1)	<u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u> <u>LS</u> <u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u> <u>DNSKNTLYLQMN</u> <u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS</u> <u>TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDK</u> <u>RVEPKSCDKTHT</u> <u>CPP</u> <u>CPAPELLGGPSVFLF</u> <u>PPPKPDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDV</u> <u>SHEDPEVKFNWYVDGVE</u> <u>VHNAKTKPREEQYNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQD</u> <u>WLN</u> <u>NGKEYKCKV</u> <u>SNKALPAPIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVY</u> <u>TLPPSREEMTK</u> <u>QVSLTCLV</u> <u>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TPPVLDSDGS</u> <u>FFLYSKL</u> <u>TVDKSRW</u> <u>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>SLSPG</u>
121	2G6.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	<u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u> <u>LS</u> <u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u> <u>DNSKNTLYLQMN</u> <u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u> <u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS</u> <u>TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDK</u> <u>RVEPKSCDKTHT</u> <u>CPP</u> <u>CPAPEAEGAPSVFLFPPPKPDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDV</u> <u>SHEDPEVKF</u> <u>NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQD</u> <u>WLN</u> <u>NGKEYKCK</u> <u>VSNKALPSSIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVY</u> <u>TLPPSREEMTK</u> <u>QVSLTCLV</u> <u>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TPPVLDSDGS</u> <u>FFLYSKL</u> <u>TVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>SLSPG</u>
122	2G6.IgG1 (VL + CL)	<u>DIQMTQSPSSLSASV</u> <u>GDRTITCRASQGI</u> <u>SSWLA</u> <u>WYQQKPEKAPKSL</u> <u>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF</u> <u>TLTISSLQPEDF</u> <u>ATYYCQ</u> <u>QYNSY</u> <u>PYTFGQGTKLEIKRTVAAPS</u> <u>VFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLN</u> <u>NFY</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQES</u> <u>VT</u> <u>EQDSK</u> <u>DSTYLS</u> <u>SSTLTL</u> <u>SKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR</u> <u>GEC</u>
123	CDR1 de VH de 2G6	DYGMH
124	CDR2 de VH de 2G6	VIWYDGSNKFYVDSVKG
125	CDR3 de VH de 2G6	GGRLATGHFYVMDV
126	CDR1 de VL de 2G6	RASQGISSWLA
127	CDR2 de VL de 2G6	AASSLQS
128	CDR3 de VL de 2G6	QQYNSYPY

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
129	2G6 (VH + G2) o 2G6-IgG2	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u><u>LS</u><u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u><u>DNSKNTLYLQMN</u><u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u><u>TVTVSSASTKGPSV</u><u>FPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDK</u><u>TVERKCCVECP</u><u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV</u><u>SVLTVVHQD</u><u>WLN</u><u>KEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY</u><u>TLPPSREEMTKNQV</u><u>SLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPMLDS</u><u>DGSFFLYSKL</u><u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
130	2G6 (VH + G2(C219S)) o 2G6-IgG2-C219S	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u><u>LS</u><u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u><u>DNSKNTLYLQMN</u><u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u><u>TVTVSSASTKGPSV</u><u>FPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDK</u><u>TVERKSCVECP</u><u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV</u><u>SVLTVVHQD</u><u>WLN</u><u>KEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY</u><u>TLPPSREEMTKNQV</u><u>SLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPMLDS</u><u>DGSFFLYSKL</u><u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
131	2G6 (VH + G2.g1) o 2G6-IgG2-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u><u>LS</u><u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u><u>DNSKNTLYLQMN</u><u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u><u>TVTVSSASTKGPSV</u><u>FPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDK</u><u>TVERKCCVECP</u><u>PCPA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u><u>VSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>KEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY</u><u>TLPPSREEMTKNQV</u><u>SLTCLVKGFY</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSD</u><u>DGSFFLYSKL</u><u>TVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
132	2G6 (VH + G2.g1.1) o 2G6-IgG2-IgG1.1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u><u>LS</u><u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u><u>DNSKNTLYLQMN</u><u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u><u>TVTVSSASTKGPSV</u><u>FPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDK</u><u>TVERKCCVECP</u><u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u><u>VSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>KEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVY</u><u>TLPPSREEMTKNQV</u><u>SLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSD</u><u>DGSFFLYSKL</u><u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>
133	2G6 (VH + G2(C219S).g1) o 2G6-IgG2-C219S-IgG1	<p> <u>QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFI</u><u>LS</u><u>SDYGMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISR</u><u>DNSKNTLYLQMN</u><u>SLRVEDTAVY</u> <u>YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGT</u><u>TVTVSSASTKGPSV</u><u>FPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><u>SGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDK</u><u>TVERKSCVECP</u><u>PCPA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u><u>VSVLTVLHQD</u><u>WLN</u><u>KEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY</u><u>TLPPSREEMTKNQV</u><u>SLTCLVKGFY</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSD</u><u>DGSFFLYSKL</u><u>TVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u> </p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
134	2G6 (VH + G2(C219S).g1.1) o 2G6-IgG2-C219S-IgG1.1	<p>QVQLVESGGGVVQPGGSLRRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLEW VTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAVY YCARGGRLATGHFYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTI</u>SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG <u>NVFS</u>SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
135	8A6 (VH)	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSS</p>
136	8A6 (VL)	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYSY PYTFGQGTKLEIK</p>
137	8A6 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTI</u>SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG <u>NVFS</u>SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
138	8A6 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYSY PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYP <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u>STYLSSTLTLSKADYEK <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u></p>
139	8A6.IgG1 (VH + IgG1)	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
140	8A6.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPP CPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
141	8A6.IgG1 (VL + CL)	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQFN SYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD YEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
142	CDR1 de VH de 8A6	SYGMQ
143	CDR2 de VH de 8A6	VIWYEGSNKYYADSVKG
144	CDR3 de VH de 8A6	GGLMVRGLFYYGMDV
145	CDR1 de VL de 8A6	RASQGISSALA
146	CDR2 de VL de 8A6	DASSLES
147	CDR3 de VL de 8A6	QQFNSTPYT
148	8A6 (VH + G2(C219S)) u 8A6-IgG2-C219S	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNLSRAEDTAVY</u> <u>YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECP</u> <u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSIVLTVLHQQDNLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG</u>
149	8A6 (VH + G2.g1) u 8A6-IgG2-IgG1	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNLSRAEDTAVY</u> <u>YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECP</u> <u>PCPA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQDNLNGKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG</u>
150	8A6 (VH + G2.g1.1) u 8A6-IgG2-IgG1.1	<u>QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKLEW</u> <u>VAVIWEYEGSNKYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNLSRAEDTAVY</u> <u>YCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECP</u> <u>PCPA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQQDNLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG</u>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
151	8A6 (VH + G2(C219S).g1) u 8A6-IgG2-C219S-IgG1	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWYEGSNKYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGLMVRGLFYGMVDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ</u> <u>GNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
152	8A6 (VH + G2(C219S).g1.1) u 8A6-IgG2-C219S-IgG1.1	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVIWYEGSNKYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGLMVRGLFYGMVDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
153	9G7 (VH)	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS</u> CAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISKSDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTE DIAVYYCTTGQLIPYSYYGMDVWGQGTSTVTVSS
154	9G7 (VL1)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKVEIK
155	9G7 (VL2)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVTSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPITFGQGRLEIK
156	9G7 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS</u> CAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISKSDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTE DIAVYYCTTGQLIPYSYYGMDVWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY</u> <u>SLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCP</u> <u>APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNW</u> <u>YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u> <u>NKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG</u> <u>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ</u> <u>EGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLK</u>
157	9G7 L2 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 2) La región constante está subrayada	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVTSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY <u>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE</u> <u>KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
158	9G7.IgG1 (VH + IgG1)	EVQLVESGGGLV K PGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTE D TAVYYCTTGQLIPYSY Y YGM D VWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTV P SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCP PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS N KALPAPIEK T ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNV F SCSV M HEALHNHYTQKSLSLSPG
159	9G7.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	EVQLVESGGGLV K PGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTE D TAVYYCTTGQLIPYSY Y YGM D VWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTV P SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCP PCPAPAEAGAPS V FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS N KALPSSIEK T ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNV F SCSV M HEALHNHYTQKSLSLSPG
160	9G7.IgG1 (VL1 + CL)	EIVLTQSPGTL S LSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
161	9G7.IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPGTL S LSPGERATLSCRASQSVTSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPITFGQTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
162	CDR1 de VH de 9G7	TVWMS
163	CDR2 de VH de 9G7	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG
164	CDR3 de VH de 9G7	GQLIPYSY Y YGM D V
165	CDR1 de VL1 9G7	RASQSVSSSYLA
166	CDR2 de VL1 9G7	GASSRAT
167	CDR3 de VL1 9G7	QQYGSSPWT
168	CDR1 de VL2 9G7	RASQSVTSSSYLA
169	CDR2 de VL2 9G7	GASSRAT
170	CDR3 de VL2 9G7	QQYGSSPIT

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
171	9G7 (VH + G2) o 9G7-IgG2	<p>EVQLVESGGGLV^KPGGSLRLS^{CAASGFT}FTSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK^{SKTDGGTTDYAAPVKGRFT}ISRDDSKNTLYLQMN^{SLHTE}DTA VYYCTTGQLIPYS^{YYYGMDVWGQGT}SVTVSSASTK^{GPSVF}PLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u>VS^{WNSGALT}SGVHTFPAVLQSSGLY <u>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDH</u>KPSNTKVDK^{TVERKCCVECP}PCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI^{SRTPEVTCVVVDV}SHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV^{SVLTVVHQD}WLN^{NGKEYKCKVSN} KGLPAPIEKTI^{SKTKGQPREPQVY}TLPPSREEMTK^{NQVSLTCLVKGF} YPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TTPPMLDSDGSFFLYSKLTV}DKSRWQQ GNV^{FSCSVMHEALHNHYTQKSL}SLSPG</p>
172	9G7 (VH + G2(C219S)) o 9G7-IgG2-C219S	<p>EVQLVESGGGLV^KPGGSLRLS^{CAASGFT}FTSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK^{SKTDGGTTDYAAPVKGRFT}ISRDDSKNTLYLQMN^{SLHTE}DTA VYYCTTGQLIPYS^{YYYGMDVWGQGT}SVTVSSASTK^{GPSVF}PLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u>VS^{WNSGALT}SGVHTFPAVLQSSGLY <u>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDH</u>KPSNTKVDK^{TVERKCCVECP}PCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI^{SRTPEVTCVVVDV}SHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV^{SVLTVVHQD}WLN^{NGKEYKCKVSN} KGLPAPIEKTI^{SKTKGQPREPQVY}TLPPSREEMTK^{NQVSLTCLVKGF} YPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TTPPMLDSDGSFFLYSKLTV}DKSRWQQ GNV^{FSCSVMHEALHNHYTQKSL}SLSPG</p>
173	9G7 (VH + G2.g1) o 9G7-IgG2-IgG1	<p>EVQLVESGGGLV^KPGGSLRLS^{CAASGFT}FTSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK^{SKTDGGTTDYAAPVKGRFT}ISRDDSKNTLYLQMN^{SLHTE}DTA VYYCTTGQLIPYS^{YYYGMDVWGQGT}SVTVSSASTK^{GPSVF}PLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u>VS^{WNSGALT}SGVHTFPAVLQSSGLY <u>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDH</u>KPSNTKVDK^{TVERKCCVECP}PCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI^{SRTPEVTCVVVDV}SHEDPEVKFNWY YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV^{SVLTVLHQD}WLN^{NGKEYKCKVSN} NKALPAPIEKTI^{SKAKGQPREPQVY}TLPPSREEMTK^{NQVSLTCLVKGF} FYPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TTPVLDSDGSFFLYSKLTV}DKSRWQ QGNV^{FSCSVMHEALHNHYTQKSL}SLSPG</p>
174	9G7 (VH + G2.g1.1) o 9G7-IgG2-IgG1.1	<p>EVQLVESGGGLV^KPGGSLRLS^{CAASGFT}FTSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK^{SKTDGGTTDYAAPVKGRFT}ISRDDSKNTLYLQMN^{SLHTE}DTA VYYCTTGQLIPYS^{YYYGMDVWGQGT}SVTVSSASTK^{GPSVF}PLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u>VS^{WNSGALT}SGVHTFPAVLQSSGLY <u>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDH</u>KPSNTKVDK^{TVERKCCVECP}PCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI^{SRTPEVTCVVVDV}SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV^{SVLTVLHQD}WLN^{NGKEYKCKVSN} KALPSSIEKTI^{SKAKGQPREPQVY}TLPPSREEMTK^{NQVSLTCLVKGF} YPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TTPVLDSDGSFFLYSKLTV}DKSRWQQ GNV^{FSCSVMHEALHNHYTQKSL}SLSPG</p>
175	9G7 (VH + G2(C219S).g1) o 9G7-IgG2-C219S-IgG1	<p>EVQLVESGGGLV^KPGGSLRLS^{CAASGFT}FTSTVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK^{SKTDGGTTDYAAPVKGRFT}ISRDDSKNTLYLQMN^{SLHTE}DTA VYYCTTGQLIPYS^{YYYGMDVWGQGT}SVTVSSASTK^{GPSVF}PLAPCSR <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u>VS^{WNSGALT}SGVHTFPAVLQSSGLY <u>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDH</u>KPSNTKVDK^{TVERKCCVECP}PCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI^{SRTPEVTCVVVDV}SHEDPEVKFNWY YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV^{SVLTVLHQD}WLN^{NGKEYKCKVSN} NKALPAPIEKTI^{SKAKGQPREPQVY}TLPPSREEMTK^{NQVSLTCLVKGF} FYPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TTPVLDSDGSFFLYSKLTV}DKSRWQ QGNV^{FSCSVMHEALHNHYTQKSL}SLSPG</p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
176	9G7 (VH + G2(C219S).g1.1) o 9G7-IgG2-C219S-IgG1.1	EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLSCAASGFT ^F STVWMSWVRQAPGKGLEW VGRISK ^S KT ^D GGT ^T TDYAAPVKGRFT ^I SRDDSKNTLYLQMNSLHTE ^D TA VYYCTT ^G QLIPYS ^Y Y ^Y Y ^Y GMDVWGQGT ^S VT ^V SSAST ^K GPSV ^F PLAPCS ^R <u>STSESTAALGCLVKDYFPEPVT^VSWNSGALTS^GVHT^FPAVLQSSGLY</u> <u>SLSSV^VTV^PSSN^FGT^QTYTC^NVD^HK^PSNT^KV^DK^TVER^KSC^VEC^PPC^P</u> <u>APPVAG^SV^FLP^PPK^DTLMI^SRT^PEV^TCV^VVD^VSHED^PEV^KFN^WY</u> <u>VDGVE^VHNAK^TK^PREE^QYN^STY^RV^VSV^LTVL^HQ^DWL^NG^EY^KCK^VSN</u> <u>KAL^PSS^IE^KT^ISKAK^GQ^PREP^QV^YTL^PPS^REEM^TKN^QV^SLT^CL^VK^GF</u> <u>Y^PSD^IAVE^WES^NG^QPEN^NY^KTP^PV^LDS^DGS^FFLY^SKL^TV^DK^SR^WQ^Q</u> <u>GN^VF^SCS^VM^HEAL^HN^HY^TQ^KSL^SLS^PG</u>
177	9G7 L1 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 1) La región constante está subrayada	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGT ^K VEIK ^R T ^V AAP ^S V ^F IF ^P PS ^D E ^Q L ^K S ^G T ^A SV ^V CL ^L NN ^F Y <u>P^REAK^VQ^WK^VD^NAL^QS^GN^SQ^ES^VT^EQ^DS^KD^ST^YS^LS^ST^LT^LS^KA^DY^E</u> <u>K^HK^VY^AC^EV^TH^QL^SS^PV^TK^SF^NR^GE^C</u>
178	14E3 (VH)	QVQLQQWGAGLLK ^P SETLSLTCAVYGGSFSGYY ^W SWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSL ^K SRVTISVDT ^S KN ^Q LSL ^K LSSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGT ^M VTVSS
179	14E3 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIS ^S W ^L AWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS ^S LQPE ^D FATYYCQQYNSY PPTFGQGT ^K VEIK
180	14E3 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	QVQLQQWGAGLLK ^P SETLSLTCAVYGGSFSGYY ^W SWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSL ^K SRVTISVDT ^S KN ^Q LSL ^K LSSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGT ^M VTVSSAST ^K GPSV ^F PLAPSS ^K STSGGTAA <u>LGCLVKDYFPEPVT^VSWNSGALTS^GVHT^FPAVLQSSGLYSLSSV^VTV</u> <u>PSSSLGT^QTYIC^NV^NH^KP^SN^TK^VD^KR^VE^PK^SC^DK^TH^TC^PPC^PA^PE^LL</u> <u>GG^PS^VF^LF^PPK^DTLMI^SRT^PEV^TCV^VVD^VSHED^PEV^KFN^WY^VD^GV</u> <u>EVHNAK^TK^PREE^QYN^STY^RV^VSV^LTVL^HQ^DWL^NG^EY^KCK^VSN^KAL^P</u> <u>APIE^KT^ISKAK^GQ^PREP^QV^YTL^PPS^RDEL^TKN^QV^SLT^CL^VK^GF^YPS^D</u> <u>IAVE^WES^NG^QPEN^NY^KTP^PV^LDS^DGS^FFLY^SKL^TV^DK^SR^WQ^QGN^V</u> <u>SC^SV^MH^EAL^HN^HY^TQ^KSL^SLS^PG^K</u>
181	14E3 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIS ^S W ^L AWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS ^S LQPE ^D FATYYCQQYNSY PPTFGQGT ^K VEIK ^R T ^V AAP ^S V ^F IF ^P PS ^D E ^Q L ^K S ^G T ^A SV ^V CL ^L NN ^F Y ^P <u>REAK^VQ^WK^VD^NAL^QS^GN^SQ^ES^VT^EQ^DS^KD^ST^YS^LS^ST^LT^LS^KA^DY^EK</u> <u>H^KV^YA^CE^VT^HQ^LS^SP^VT^KS^FN^RG^EC</u>
182	14E3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLQQWGAGLLK ^P SETLSLTCAVYGGSFSGYY ^W SWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSL ^K SRVTISVDT ^S KN ^Q LSL ^K LSSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGT ^M VTVSSAST ^K GPSV ^F PLAPSS ^K STSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT ^V SWNSGALTS ^G VHT ^F PAVLQSSGLYSLSSV ^V TV PSSSLGT ^Q TYIC ^N V ^N H ^K P ^S N ^T K ^V D ^K R ^V E ^P K ^S C ^D K ^T H ^T C ^P PC ^P A ^P E ^L L GGPSV ^F L PPK ^D TLMI ^S RT ^P EV ^T CV ^V VD ^V SHED ^P EV ^K FN ^W Y ^V D ^G VE VHNAK ^T K ^P REE ^Q YN ^S TY ^R V ^V SV ^L TVL ^H Q ^D WL ^N G ^E Y ^K CK ^V SNKALPAPIE ^K T ^I SKAK ^G Q ^P REP ^Q V ^Y TL ^P PS ^R EEM ^T KN ^Q V ^S LT ^C L ^V K ^G FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNV ^F SC ^S V ^M H ^E AL ^H N ^H Y ^T Q ^K SL ^S LS ^P G

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
183	14E3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPPCPAPEAE GAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
184	14E3.IgG1 (VL + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSY PPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
185	CDR1 de VH de 14E3	GYYS
186	CDR2 de VH de 14E3	EINHSGNTYYNPSLKS
187	CDR3 de VH de 14E3	FGSNDAFDI
188	CDR1 de VL de 14E3	RASQGISSWLA
189	CDR2 de VL de 14E3	AASSLQS
190	CDR3 de VL de 14E3	QQYNSYPPT
191	14E3 (VH + G2) o 14E3-IgG2	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
192	14E3 (VH + G2(C219S)) o 14E3-IgG2-C219S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCVECPAPPVAGPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
193	14E3 (VH + G2.g1) o 14E3-IgG2-IgG1	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDADFIDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPPEPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
194	14E3 (VH + G2.g1.1) o 14E3-IgG2-IgG1.1	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDADFIDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPPEPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE KTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
195	14E3 (VH + G2(C219S).g1) o 14E3-IgG2-C219S-IgG1	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDADFIDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPEPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
196	14E3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 14E3-IgG2-C219S-IgG1.1	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYY CARFGSNDADFIDWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPEPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE KTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
197	19H8 (VH)	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWIYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMSLRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYVYGMVWGQGTITVTVSS</p>
198	19H8 (VL1)	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYSY PQTFGGGTKVEIK</p>
199	19H8 (VL2)	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLI IYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNW PLTFGGGTKVEIK</p>

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
200	19H8 (cadena pesada de tipo silvestre de longitud completa) La región constante está subrayada	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNLSRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRS</p> <p><u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECP</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTIVVHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u></p>
201	19H8 L1 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 1) La región constante está subrayada	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESQVPSRF'SGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQFNYSY PQTF'GQGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
202	19H8 L2 (cadena ligera de tipo silvestre de longitud completa 2)	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRTGIPARF'SGSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNW PLTF'GGGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
203	19H8.lgG1 (VH + IgG1)	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNLSRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
204	19H8.lgG1.1 (VH + IgG1.1)	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNLSRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPP CPAPEAEGAPSVEFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
205	19H8.lgG1 (VL1 + CL)	<p>AIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFL IYDASSLESQVPSRF'SGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQFNYSY PQTF'GQGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
206	19H8.IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNW PLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYF REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
207	CDR1 de VH de 19H8	NYGMH
208	CDR2 de VH de 19H8	VIWYGGSNKFYADSVKG
209	CDR3 de VH de 19H8	GGAMVRGVYYYGMDV
210	CDR1 de VL1 19H8	RASQGISSALA
211	CDR2 de VL1 19H8	DASSLES
212	CDR3 de VL1 19H8	QQFNSTPQT
213	CDR1 de VL2 19H8	RASQSVSSYLA
214	CDR2 de VL2 19H8	DASNRAT
215	CDR3 de VL2 19H8	QQRSNWPLT
216	19H8 (VH + G2(C219S)) o 19H8-IgG2-C219S	<u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEW</u> <u>MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKSCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTTLVHQLDNLNGKEYKCKVSNK</u> <u>GLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
217	19H8 (VH + G2.g1) o 19H8-IgG2-IgG1	<u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEW</u> <u>MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPPCA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> <u>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF</u> <u>YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
218	19H8 (VH + G2.g1.1) o 19H8-IgG2-IgG1.1	<u>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEW</u> <u>MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNSLSLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPPCA</u> <u>PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</u>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
219	19H8 (VH + G2(C219S).g1) o 19H8-IgG2-C219S-IgG1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNSLSLQMN SLRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFLAPCSRS <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKSCVECP PCA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
220	19H8 (VH + G2(C219S).g1.1) o 19H8-IgG2-C219S-IgG1.1	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEW MAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNSLSLQMN SLRAEDTAVY YCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFLAPCSRS <u>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS</u> <u>LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKSCVECP PCA</u> PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
221	6G10.IgG1 (VH + IgG1)	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPP CPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKE NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
222	6G10.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPP CPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKE NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
223	6G10.IgG1 (VL + CL)	<p>AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLL IYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSS LQPEDFATYYCQQFN SY PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYF REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</p>

ES 2 810 856 T3

(continuación)

SEQ ID	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
224	6G10 (VH + G2(C219S)) o 6G10-IgG2-C219S	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV<u>VERKSCVECP</u>PCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWVY DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPM L DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
225	6G10 (VH + G2.g1) o 6G10-IgG2-IgG1	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV<u>ERKCCVECP</u>PCPA <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQ GNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
226	6G10 (VH + G2.g1.1) o 6G10-IgG2-IgG1.1	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV<u>ERKSCVECP</u>PCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVY DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
227	6G10 (VH + G2(C219S).g1) o 6G10-IgG2-C219S-IgG1	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV<u>ERKSCVECP</u>PCPA <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY</u> VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQ GNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
228	6G10 (VH + G2(C219S).g1.1) o 6G10-IgG2-C219S-IgG1.1	<p>QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGSMVRGLYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV<u>ERKSCVECP</u>PCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVY DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>

La Tabla 2 proporciona las secuencias de las regiones variables maduras y las cadenas pesadas y ligeras y donde se indica, las secuencias con péptidos señal.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar el nivel de expresión del receptor de TNF inducible por glucocorticoides (GITR) en linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) y/o en células tumorales en una muestra de tejido, que comprende
- 5 (a) poner en contacto una muestra de tejido de un paciente con un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprenden las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, en donde el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se unen a GITR humano,
- 10 (b) detectar la unión del anticuerpo a GITR en TIL y células tumorales de la muestra de tejido mediante inmunohistoquímica; y, opcionalmente,
- 15 (c) teñir la muestra de tejido con marcadores de TIL y/o células tumorales y/o con hematoxilina y eosina, para identificar los TIL y/o las células tumorales que se identificaron como GITR positivos en la etapa (b).
2. El método de la reivindicación 1, en donde los TIL son linfocitos T reguladores.
3. El método de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la muestra de tejido es una muestra de tejido tumoral humano.
- 20 4. El método de la reivindicación 3, en donde el método se usa para identificar a un paciente con cáncer que probablemente responda a una inmunoterapia anti-GITR, en donde un nivel de proteína GITR por encima de un nivel umbral en la muestra de tejido tumoral humano indica que el tumor es un tumor GITR positivo y que es probable que o se predice que el paciente responda a la inmunoterapia anti-GITR.
- 25 5. Un método para monitorizar un tumor GITR positivo en un paciente con cáncer que comprende:
- 30 (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal usando un anticuerpo que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente,
- 35 (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el primer punto temporal por inmunohistoquímica,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor en un segundo punto temporal usando el mismo anticuerpo usado en la etapa (a),
- 40 (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de regresión tumoral, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de progresión tumoral y un nivel relativamente sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de un tumor estable.
- 45 6. Un método para monitorizar la eficacia de la inmunoterapia anti-GITR en un paciente que tiene un tumor GITR positivo, que comprende:
- 50 (a) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un primer punto temporal antes o después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando un anticuerpo que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente,
- 55 (b) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el primer punto temporal por inmunohistoquímica,
- (c) detectar la expresión de la proteína GITR en el tumor GITR positivo en un segundo punto temporal después de iniciar la inmunoterapia anti-GITR usando el mismo anticuerpo de la etapa (a),
- 60 (d) determinar el nivel de expresión de la proteína GITR en el tumor desde el segundo punto temporal por inmunohistoquímica;
- (e) comparar los niveles de expresión de la proteína GITR determinados en el primer y segundo punto temporal, en donde un nivel más alto en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativo de inmunoterapia anti-GITR eficaz, una puntuación más baja en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de inmunoterapia anti-GITR ineficaz y una puntuación sin cambios en el primer punto temporal en relación con el segundo punto temporal es indicativa de que la inmunoterapia anti-GITR se está estabilizando.
- 65 7. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la muestra es una muestra fijada con formol y embebida en parafina o tejido congelado.

- 5 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende regiones variables de cadenas pesada y ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente.
- 5 9. El método de la reivindicación 8, en donde el anticuerpo comprende secuencias de cadenas pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde la cadena pesada carece opcionalmente del resto de lisina C-terminal o en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente, en donde la cadena pesada carece opcionalmente del resto de lisina C-terminal.
- 10 10. Los métodos de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, comprende un resto detectable.
- 15 11. El método de la reivindicación 10, en donde el marcador es un radiomarcador, marcador fluorescente, un marcador enzimático, biotina, cromóforo o un marcador ECL.
- 20 12. Un kit de diagnóstico que comprende un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 5-7, respectivamente, y las CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 8-10, respectivamente, e instrucciones de uso.
- 25 13. El kit de diagnóstico de la reivindicación 12, en donde el anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, comprende las secuencias de la región variable de cadenas pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 11 y 12, respectivamente.
- 30 14. El kit de diagnóstico de las reivindicaciones 12 o 13, en donde el anticuerpo comprende las secuencias de cadenas pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde la cadena pesada carece opcionalmente del resto de lisina C-terminal.
15. El kit de diagnóstico de las reivindicaciones 12 o 13, en donde el anticuerpo comprende las secuencias de cadenas pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NO: 15 y 16, respectivamente, en donde la cadena pesada carece opcionalmente del resto de lisina C-terminal.

VH de anti-GITR 6G10 (hIgG2)

Segmento V: 3-33

Segmento D: 3 - 10

Segmento J: JH6b

```

1      Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   D   V   V   Q   P   G   R   S
      CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GAC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TTC

      _____ _CDR1_____
52     L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   T   Y   G   M
      CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT ACC TAT GGC ATG

      _____ _CDR2_____
103    H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   T
      CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ACA

      _____
154    W   Y   A   G   S   N   K   F   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
      TGG TAT GCT GGA AGT AAT AAA TTT TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

      _____
205    T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
      ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

      _____ _CDR3_____
256    L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   S   M
      CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGA GGT AGT ATG

      _____
307    V   R   G   L   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
      GTT CGG GGA CTT TAT TAT TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

      _____
358    V   T   V   S   S
      GTC ACC GTC TCC TCA
    
```

Figura 1

ES 2 810 856 T3

VK1 de anti-GITR 6G10 (hKappa)

Segmento V: L18

Segmento J: JK2

```

1      A  I  Q  L  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D
      GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

      _CDR1_
52     R  V  T  I  T  C  R  A  S  Q  G  I  S  S  A  L  A
      AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

      _CDR2_
103    W  Y  Q  Q  K  P  G  K  A  P  K  L  L  I  Y  D  A
      TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC

154    S  S  L  E  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G
      TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

205    T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T
      ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

      _CDR3_
256    Y  Y  C  Q  Q  F  N  S  Y  P  Y  T  F  G  Q  G  T
      TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

307    K  L  E  I  K
      AAG CTG GAG ATC AAA
  
```

Figura 2

ES 2 810 856 T3

VH de G1TR 6G10

Q V Q L V E S G G D V V Q P G
1 CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GAC GTG GTC CAG CCT GGG

VH de G1TR 6G10

R S L R L S C A A S G F T F S
46 AGG TCC CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT

VH de G1TR 6G10

T Y G M H W V R Q A P G K G L
91 ACC TAT GGC ATG CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG

VH de G1TR 6G10

E W V A V T W Y A G S N K F Y
136 GAG TGG GTG GCA GTT ACA TGG TAT GCT GGA AGT AAT AAA TTT TAT

VH de G1TR 6G10

A D S V K G R F T I S R D N S
181 GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC

VH de G1TR 6G10

K N T L Y L Q M N S L R A E D
226 AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC CTG AGA GCC GAG GAC

VH de G1TR 6G10

T A V Y Y C A R G G S M V R G
271 ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGA GGT AGT ATG GTT CGG GGA

VH de G1TR 6G10

L Y Y Y G M D V W G Q G T T V
316 CTT TAT TAT TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC

mIgG2a constante

VH de G1TR 6G10

T V S S A K T T A P S V Y P L
361 ACC GTC TCC TCA GCC AAA ACA ACA GCC CCA TCG GTC TAT CCG CTA

mIgG2a constante

A P V C G D T T G S S V T L G
406 GCC CCT GTG TGT GGA GAT ACA ACT GGC TCC TCG GTG ACT CTA GGA

mIgG2a constante

C L V K G Y F P E P V T L T W
451 TGC CTG GTC AAG GGT TAT TTC CCT GAG CCA GTG ACC TTG ACC TGG

mIgG2a constante

N S G S L S S G V H T F P A V
496 AAC TCT GGA TCC CTG TCC AGT GGT GTG CAC ACC TTC CCA GCT GTC

mIgG2a constante

L Q S D L Y T L S S S V T V T
541 CTG CAG TCT GAC CTC TAC ACC CTC AGC AGC TCA GTG ACT GTA ACC

mIgG2a constante

S S T W P S Q S I T C N V A H
586 TCG AGC ACC TGG CCC AGC CAG TCC ATC ACC TGC AAT GTG GCC CAC

mIgG2a constante

P A S S T K V D K K I E P R G
631 CCG GCA AGC AGC ACC AAG GTG GAC AAG AAA ATT GAG CCC AGA GGG

mIgG2a constante

ES 2 810 856 T3

```

~~~~~
P T I K P C P P C K C P A P N
676 CCC ACA ATC AAG CCC TGT CCT CCA TGC AAA TGC CCA GCA CCT AAC
mIgG2a constante
~~~~~
L L G G P S V F I F P P K I K
721 CTC TTG GGT GGA CCA TCC GTC TTC ATC TTC CCT CCA AAG ATC AAG
mIgG2a constante
~~~~~
D V L M I S L S P I V T C V V
766 GAT GTA CTC ATG ATC TCC CTG AGC CCC ATA GTC ACA TGT GTG GTG
mIgG2a constante
~~~~~
V D V S E D D P D V Q I S W F
811 GTG GAT GTG AGC GAG GAT GAC CCA GAT GTC CAG ATC AGC TGG TTT
mIgG2a constante
~~~~~
V N N V E V H T A Q T Q T H R
856 GTG AAC AAC GTG GAA GTA CAC ACA GCT CAG ACA CAA ACC CAT AGA
mIgG2a constante
~~~~~
E D Y N S T L R V V S A L P I
901 GAG GAT TAC AAC AGT ACT CTC CGG GTG GTC AGT GCC CTC CCC ATC
mIgG2a constante
~~~~~
Q H Q D W M S G K E F K C K V
946 CAG CAC CAG GAC TGG ATG AGT GGC AAG GAG TTC AAA TGC AAG GTC
mIgG2a constante
~~~~~
N N K D L P A P I E R T I S K
991 AAC AAC AAA GAC CTC CCA GCG CCC ATC GAG AGA ACC ATC TCA AAA
mIgG2a constante
~~~~~
P K G S V R A P Q V Y V L P P
1036 CCC AAA GGG TCA GTA AGA GCT CCA CAG GTA TAT GTC TTG CCT CCA
mIgG2a constante
~~~~~
P E E E M T K K Q V T L T C M
1081 CCA GAA GAA GAG ATG ACT AAG AAA CAG GTC ACT CTG ACC TGC ATG
mIgG2a constante
~~~~~
V T D F M P E D I Y V E W T N
1126 GTC ACA GAC TTC ATG CCT GAA GAC ATT TAC GTG GAG TGG ACC AAC
mIgG2a constante
~~~~~
N G K T E L N Y K N T E P V L
1171 AAC GGG AAA ACA GAG CTA AAC TAC AAG AAC ACT GAA CCA GTC CTG
mIgG2a constante
~~~~~
D S D G S Y F M Y S K L R V E
1216 GAC TCT GAT GGT TCT TAC TTC ATG TAC AGC AAG CTG AGA GTG GAA
mIgG2a constante
~~~~~
K K N W V E R N S Y S C S V V
1261 AAG AAG AAC TGG GTG GAA AGA AAT AGC TAC TCC TGT TCA GTG GTC

```

```

                                mIgG2a constante
                                ~~~~~
      H   E   G   L   H   N   H   H   T   T   K   S   F   S   R
1306 CAC GAG GGT CTG CAC AAT CAC CAC ACG ACT AAG AGC TTC TCC CGG
      mIgG2a constante
      ~~~~~
      T   P   G   K   *
1351 ACT CCG GGT AAA TGA

```

Figura 5

ES 2 810 856 T3

VK de GITR 6G10

~~~~~  
A I Q L T Q S P S S L S A S V  
1 GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA  
VK de GITR 6G10

~~~~~  
G D R V T I T C R A S Q G I S
46 GGA GAC AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC
VK de GITR 6G10

~~~~~  
S A L A W Y Q Q K P G K A P K  
91 AGT GCT TTA GCC TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG  
VK de GITR 6G10

~~~~~  
L L I Y D A S S L E S G V P S
136 CTC CTG ATC TAT GAT GCC TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA
VK de GITR 6G10

~~~~~  
R F S G S G S G T D F T L T I  
181 AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC  
VK de GITR 6G10

~~~~~  
S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q
226 AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT TAT TAC TGT CAA CAG
VK de GITR 6G10

~~~~~  
F N S Y P Y T F G Q G T K L E  
271 TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC AAG CTG GAG  
C kappa murina

~~~~~  
VK de GITR 6G10

~~~~~  
I K R A D A A P T V S I F P P  
316 ATC AAA CGG GCT GAT GCT GCA CCA ACT GTA TCC ATC TTC CCA CCA

~~~~~  
DMTm89

~~~~~  
DMTm88

C kappa murina

~~~~~  
S S E Q L T S G G A S V V C F
361 TCC AGT GAG CAA TTG ACA TCT GGA GGT GCC TCA GTC GTG TGC TTC

.....
~~~~~  
...

C kappa murina

~~~~~  
L N N F Y P K D I N V K W K I
406 TTG AAC AAC TTC TAC CCC AAA GAC ATC AAT GTC AAG TGG AAG ATT

C kappa murina

~~~~~  
D G S E R Q N G V L N S W T D  
451 GAT GGC AGT GAA CGA CAA AAT GGC GTC CTG AAC AGT TGG ACC GAT

C kappa murina

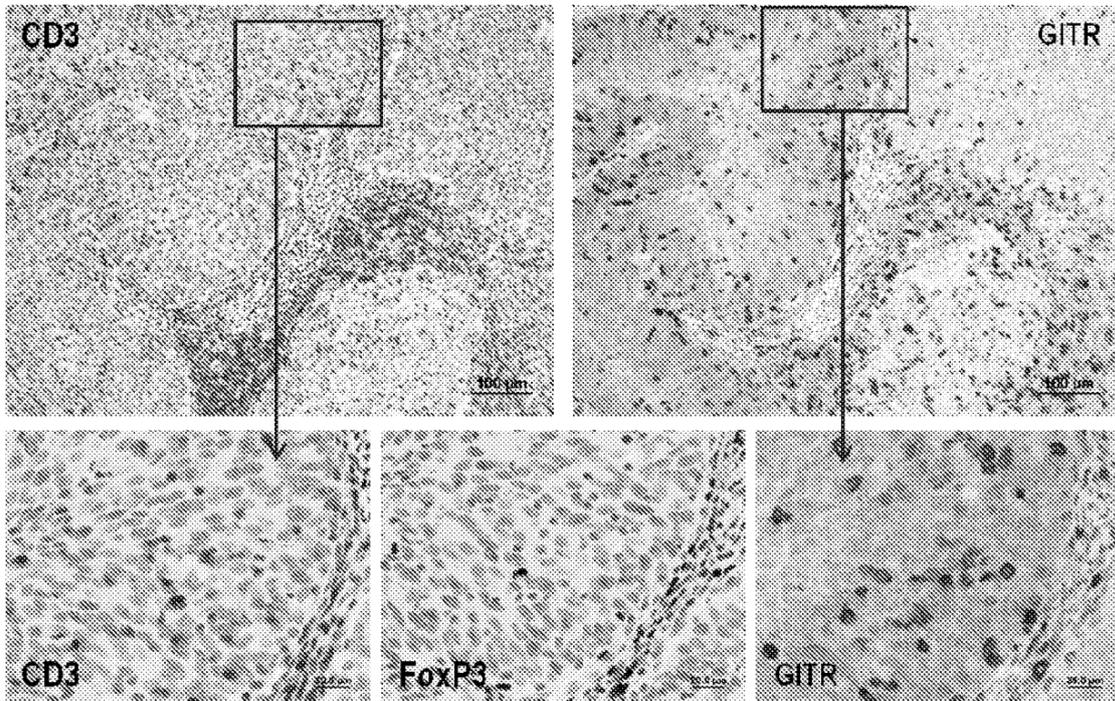
~~~~~  
Q D S K D S T Y S M S S T L T
496 CAG GAC AGC AAA GAC AGC ACC TAC AGC ATG AGC AGC ACC CTC ACG

C kappa murina

~~~~~  
L T K D E Y E R H N S Y T C E

```
541 TTG ACC AAG GAC GAG TAT GAA CGA CAT AAC AGC TAT ACC TGT GAG
      C kappa murina
~~~~~
 A T H K T S T S P I V K S F N
586 GCC ACT CAC AAG ACA TCA ACT TCA CCC ATT GTC AAG AGC TTC AAC
 C kappa murina
~~~~~
      R N E C *
631 AGG AAT GAG TGT TAG
```

**Figura 6**



**Figura 7**