

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 923**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2014** **PCT/US2014/070951**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015** **WO15095392**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2014** **E 14828608 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2020** **EP 3083689**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD3 y métodos de uso**

30 Prioridad:

17.12.2013 US 201361917346 P
07.03.2014 US 201461949950 P
18.07.2014 US 201462026594 P
22.09.2014 US 201462053582 P
12.12.2014 US 201462091441 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.03.2021

73 Titular/es:

GENENTECH, INC. (100.0%)
1 DNA Way
South San Francisco CA 94080-4490, US

72 Inventor/es:

CHEN, XIAOCHENG;
DENNIS, MARK S.;
EBENS, ALLEN J. JR.;
JUNTILA, TEEMU T.;
KELLEY, ROBERT F.;
MATHIEU, MARY A. y
SUN, LIPING L.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 811 923 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-CD3 y métodos de uso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a anticuerpos anti-grupo de diferenciación 3 (CD3) y a métodos de uso de los mismos.

Antecedentes

Los trastornos de la proliferación celular, tales como el cáncer, se caracterizan por el crecimiento descontrolado de subpoblaciones de células. Son la principal causa de muerte en los países desarrollados y la segunda principal causa de muerte en los países en desarrollo, diagnosticándose más de 12 millones de nuevos casos de cáncer y produciéndose 7 millones de muertes a causa del cáncer cada año. El National Cancer Institute estima que más de medio millón de estadounidenses fallecerán a causa del cáncer en 2013, lo que representa aproximadamente una de cada cuatro muertes en el país. Debido al aumento de la población de la tercera edad, la incidencia del cáncer ha aumentado concurrentemente, ya que la probabilidad de desarrollar cáncer es más de dos veces mayor superados los setenta años. Por tanto, el tratamiento del cáncer representa una carga para la sociedad significativa y permanentemente creciente.

Desde hace tiempo, las estrategias de tratamiento del cáncer incluyen quimioterapia, radioterapia y cirugía para retirar los tumores sólidos. Recientemente, se han desarrollado inmunoterapias a base de anticuerpos biespecíficos. Dichos anticuerpos biespecíficos tienen la capacidad de unirse simultáneamente a antígenos de la superficie celular en células citotóxicas y células tumorales, con el objetivo de que la célula citotóxica unida destruya a la célula tumoral unida. El documento WO 2007/146968 describe un anticuerpo biespecífico para CD3/CD20 que tiene un dominio de unión anti-CD3 de G19-4. El documento US2013/129723 describe moléculas biespecíficas que tienen secuencias CDR de un anticuerpo anti-CD3 G19-4. Los anticuerpos biespecíficos existentes que en la actualidad se encuentran en ensayo clínico para el tratamiento del cáncer están limitados por sus cortas semividas y/o eficacia variable. Por tanto, hay una necesidad no satisfecha en el campo para el desarrollo de anticuerpos biespecíficos eficaces para su uso en el tratamiento del cáncer.

Sumario

La materia objeto de la invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención se refiere a anticuerpos anti-grupo de diferenciación 3 (CD3) y a su uso como se define por las reivindicaciones adjuntas.

En un aspecto, la invención presenta un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo anti-CD3 que comprende un primer dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185 y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267.

En algunas realizaciones, el dominio de unión de los anticuerpos anti-CD3 se une a un polipéptido CD3 humano o a un polipéptido CD3 de mono cinomolgo (cino). En algunas realizaciones, el polipéptido de CD3 humano o el polipéptido de CD3 de cino es un polipéptido de CD3 ϵ humano o un polipéptido de CD3 ϵ de cino, respectivamente. En algunas realizaciones, el polipéptido de CD3 humano o el polipéptido de CD3 de cino es un polipéptido de CD3 γ humano o un polipéptido de CD3 γ de cino, respectivamente.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden comprender una mutación de sitio de aglucosilación. En algunas realizaciones, la mutación de sitio de aglucosilación es una mutación de sustitución. En algunas realizaciones, la mutación de sustitución se encuentra en el resto de aminoácido N297, L234, L235 y/o D265 (numeración de EU). En algunas realizaciones, la mutación de sustitución se selecciona entre el grupo que consiste en N297G, N297A, L234A, L235A y D265A. En algunas realizaciones, la mutación de sustitución es una mutación N297G. En algunas realizaciones, la mutación de sitio de aglucosilación reduce la función efectora del anticuerpo anti-CD3. En algunas realizaciones, la mutación de sitio de aglucosilación reduce la función efectora del anticuerpo anti-CD3. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD3 comprende una mutación de sustitución en la región Fc que reduce la función efectora.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden ser monoclonales, humanizados o quiméricos. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden ser un fragmento de anticuerpo que se une a CD3. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo se selecciona entre el grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, Fv, scFv y (Fab')₂. En otras realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 es un anticuerpo de longitud completa. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 es un anticuerpo IgG (por ejemplo, un anticuerpo IgG1, IgG2 o IgG3). En algunas

realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 es un anticuerpo de acoplamiento a linfocitos T biespecífico (BiTE®).

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden comprender uno o más dominios constantes de cadena pesada, en donde los uno o más dominios constantes de cadena pesada se seleccionan entre un primer dominio CH1 (CH1₁), un primer dominio CH2 (CH2₁), un primer dominio CH3 (CH3₁), un segundo dominio CH1 (CH1₂), un segundo dominio CH2 (CH2₂) y un segundo dominio CH3 (CH3₂). En algunas realizaciones, al menos uno de los uno o más dominios constantes de cadena pesada se empareja con otro dominio constante de cadena pesada. En algunas realizaciones, cada uno de los dominios CH3₁ y CH3₂ comprenden una protuberancia o cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH3₁ puede posicionarse en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH3₂. En algunas realizaciones, los dominios CH3₁ y CH3₂ se encuentran en una interfaz entre dicha protuberancia y cavidad. En algunas realizaciones, cada uno de los dominios CH2₁ y CH2₂ comprenden una protuberancia o cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH2₁ puede posicionarse en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH2₂. En algunas realizaciones, los dominios CH2₁ y CH2₂ se encuentran en una interfaz entre dicha protuberancia y cavidad.

En algunas realizaciones, la semivida de uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores puede ser de aproximadamente 7 días.

En algunas realizaciones, la invención presenta un inmunoconjugado que comprende los anticuerpos anti-CD3 conjugados a un agente citotóxico. También se proporciona una composición que comprende los anticuerpos anti-CD3. En algunas realizaciones, la composición comprende además un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, la composición comprende además un antagonista de unión al eje de PD-1 o un agente terapéutico adicional. En otro aspecto, la invención presenta un ácido nucleico aislado que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 divulgados en el presente documento, que comprende un vector (por ejemplo, un vector de expresión) para expresar el anticuerpo.

En otro aspecto, la invención presenta células hospedadoras que comprenden los ácidos nucleicos y/o vectores anteriores. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula de mamífero (por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO)). En otras realizaciones, la célula hospedadora es una célula procariota (por ejemplo, una célula de *E. coli*). También se proporciona un método para producir uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores, comprendiendo el método cultivar la célula hospedadora que produce el anticuerpo anti-CD3 y recuperar el anticuerpo anti-CD3 de la célula hospedadora o del medio de cultivo.

En algunos aspectos, los anticuerpos anti-CD3 pueden ser para su uso como medicamento. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden ser para su uso en el tratamiento o el retraso de la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 pueden ser para su uso en la potenciación de la función inmunitaria en un sujeto que tenga un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario.

Un aspecto adicional de la divulgación es un método para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores. En otro aspecto, la invención presenta uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores para su uso en un método de terapia potenciando la función inmunitaria en un sujeto que tenga un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, comprendiendo el método administrar al sujeto uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se une a (a) una molécula de CD3 situada en una célula efectora inmunitaria y (b) una segunda molécula biológica situada en una célula diana distinta de la célula efectora inmunitaria. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 activa a la célula efectora inmunitaria después de la unión a (a) y (b). En algunas realizaciones, la célula efectora inmunitaria activada es capaz de ejercer un efecto citotóxico y/o un efecto apoptótico en la célula diana. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra al sujeto en una dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra al sujeto en una dosis de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra al sujeto en una dosis de aproximadamente 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra por vía subcutánea, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía tópica, por vía oral, por vía transdérmica, por vía intraperitoneal, por vía intraorbital, mediante implante, mediante inhalación, por vía intratecal, por vía intraventricular o por vía intranasal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 se administra por vía intravenosa.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un antagonista de unión al eje de PD-1 o un agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra antes o después de la administración del anticuerpo anti-CD3. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra de manera concurrente con el anticuerpo anti-CD3. En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje de PD-1 se selecciona entre el grupo que consiste en un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2. En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje de PD-1 se selecciona entre el

grupo que consiste en MDX-1106 (nivolumab), MK-3475 (lambrolizumab), CT-011 (pidilizumab) y AMP-224. En otras realizaciones, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-L1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión a PD-L1 se selecciona entre el grupo que consiste en: YW243.55.S70, MPDL3280A, MDX-1105 y MEDI4736. En otras realizaciones, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-L2.

5 En algunas realizaciones, el antagonista de unión a PD-L2 es un anticuerpo o una inmunoadhesina.

En algunos aspectos, la invención presenta los anticuerpos anti-CD3 de la invención para su uso en un método de tratamiento o para retrasar la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo anti-CD3 y un antagonista de unión al eje de PD-1, en donde el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD3 y un brazo anti-CD20. En algunos aspectos, la invención presenta un método para potenciar la función inmunitaria en un sujeto que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo anti-CD3 y un antagonista de unión al eje de PD-1, en donde el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD3 o un brazo anti-CD20 (es decir, un TDB para CD20). En algunas realizaciones, (a) el brazo anti-CD3 comprende un primer dominio de unión que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185; (b) el brazo anti-CD20 comprende un segundo dominio de unión que comprende (i) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (ii) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267; y/o (c) el antagonista de unión al eje de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD20 que comprende una mutación de sustitución N297G. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD3 que comprende las mutaciones de sustitución T366S, L368A, Y407V y/o N297G y un brazo anti-CD20 que comprende las mutaciones de sustitución T366W y/o N297G. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD3 que comprende una mutación de sustitución N297G. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 comprende un brazo anti-CD20 que comprende las mutaciones de sustitución T366S, L368A, Y407V y/o N297G y un brazo anti-CD3 que comprende las mutaciones de sustitución T366W y/o N297G.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un glucocorticoide. En algunas realizaciones, el glucocorticoide se selecciona entre el grupo que consiste en dexametasona, hidrocortisona, cortisona, prednisolona, prednisona, metilprednisona, triamcinolona, parametasona, betametasona, fludrocortisona y ésteres, sales y complejos farmacéuticamente aceptables de los mismos. En algunas realizaciones, el glucocorticoide es dexametasona. En algunas realizaciones, el glucocorticoide es un éster, sal o complejo farmacéuticamente aceptable de la dexametasona.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto rituximab.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto obinutuzumab.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC).

En cualquiera de los usos anteriores, el trastorno proliferativo celular puede ser cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón no microcítico, linfoma no Hodgkin (NHL), linfoma de linfocitos B, leucemia de linfocitos B, mieloma múltiple, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, cáncer de ovario, mesotelioma, glioblastoma, DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL), linfoma de Burkitt (BL), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma esplénico de la zona marginal, tricoleucemia, linfoma/leucemia esplénica, no clasificable, linfoma de células β pequeñas de la pulpa roja difusa esplénica, variante de tricoleucemia, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedades de cadenas pesadas, enfermedad de cadena pesada α , enfermedad de cadena pesada γ , enfermedad de cadena pesada μ , mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma solitario del hueso, plasmacitoma extraóseo, linfoma de la zona marginal extranodal de tejido linfocítico asociado a mucosa (linfoma MALT), linfoma de la zona marginal nodal, linfoma de la zona marginal nodal pediátrico, linfoma folicular pediátrico, linfoma del centro folicular cutáneo primario, linfoma de linfocitos B grandes rico en linfocitos T/histiocitos, DLBCL primario del SNC, DLBCL cutáneo primario, tipo pierna, DLBCL positivo a EBV en ancianos, DLBCL asociado a inflamación crónica, granulomatosis linfomatoide, linfoma de células β grandes mediastinales (tímicas) primario, linfoma de células β grandes intravascular, linfoma de linfocitos B grandes positivos a ALK, linfoma plasmablastico, linfoma de células β grandes que surge en enfermedad de Castleman multicéntrica asociada con HHV8, linfoma de efusión primario: linfoma de células β , no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de células β grandes y linfoma de Burkitt y linfoma de células β , no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de células β grandes y el linfoma de Hodgkin clásico. En algunas realizaciones, el cáncer preferido es DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica

(CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL) o linfoma de Burkitt (BL).

En cualquiera de los usos anteriores, el trastorno autoinmunitario puede seleccionarse entre el grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico (SLE), enfermedad de Wegener, enteropatía inflamatoria, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), trombocitopenia autoinmunitaria, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Raynaud, síndrome de Sjögren, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía por IgG.

En otro aspecto, la divulgación presenta un kit que comprende: (a) una composición que comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 anteriores y (b) un prospecto que comprende instrucciones para administrar la composición a un sujeto para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo celular.

En cualquiera de los usos anteriores, el sujeto puede ser un ser humano.

Breve descripción de los dibujos

La FIGURA 1 muestra la secuencia de aminoácidos de CD3 ϵ humano monocatenario con una secuencia enlazadora de 26 mero usada en experimentos de mapeo de epítomos de CD3 (SEQ ID NO: 282).

La FIGURA 2A es una tabla que resume la caracterización de clones de hibridoma seleccionados. La tabla resume los resultados de los experimentos ELISA de unión a CD3 usando CD3 ϵ ¹⁻²⁷-Fc humano y de cino; experimentos de unión FACS que usan linfocitos T Jurkat, PBMC humanas y PBMC de cino; experimentos de activación de linfocitos T que usan análisis FACS; y experimentos de determinación de isotipo.

La FIGURA 2B es una tabla que resume las afinidades de unión (valores de K_d) de clones de hibridoma seleccionados para un antígeno CD3 ϵ humano comercial.

La FIGURA 3A es una tabla que resume la caracterización de hibridomas seleccionados. La tabla resume los resultados de los experimentos ELISA de unión a CD3 usando CD3 ϵ ¹⁻²⁷-Fc humano y de cino; experimentos de unión FACS que usan linfocitos T Jurkat, PBMC humanas y PBMC de cino; experimentos de activación de linfocitos T que usan análisis FACS; y experimentos de determinación de isotipo.

Las FIGURAS 3B y 3C son tablas que resumen las afinidades de unión (valores de K_d) de clones de hibridoma seleccionados. La FIGURA 4A muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera de los anticuerpos anti-CD3. Las secuencias de HVR están delimitadas por las cajas indicadas para cada uno de los anticuerpos.

La FIGURA 4B muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera de los anticuerpos anti-CD3.

La FIGURA 4C muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena pesada de los anticuerpos anti-CD3.

La FIGURA 5A muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera de los anticuerpos anti-CD3.

La FIGURA 5B muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena pesada de los anticuerpos anti-CD3.

La FIGURA 6A muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera del anticuerpo anti-CD3 21A9 y Rab17.

La FIGURA 6B muestra las secuencias de aminoácidos del dominio variable de cadena pesada del anticuerpo anti-CD3 21A9 y Rab17.

La FIGURA 7 es un alineamiento de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) de anticuerpos anti-CD3 que muestran la secuencia consenso, 40G5c, procedente de los anticuerpos clonales relacionados.

La FIGURA 8A es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 13A3 y una variante humanizada del mismo (hu13A3).

La FIGURA 8B es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 30A1 y una variante humanizada del mismo (hu30A1).

La FIGURA 8C es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 41D9a y una variante humanizada del mismo (hu41D9a).

La FIGURA 8D es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 SP34 y una variante humanizada del mismo (huSP34).

La FIGURA 8E es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 38E4 y una variante humanizada del mismo (hu38E4).

La FIGURA 8F es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 40G5 y una

variante humanizada del mismo (hu40G5).

La FIGURA 9A es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 13A3 y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 9B es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 30A1 y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 9C es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 41D9a y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 9D es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 SP34 y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 9E es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 38E4 y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 9F es una tabla que resume variantes humanizadas seleccionadas del anticuerpo anti-CD3 40G5c y sus afinidades de unión, ensayadas usando CD3ε comercial (Creative Biomart, Shirley, NY; número de catálogo CD3E-2194H).

La FIGURA 10 es una tabla que resume la afinidad de unión de anticuerpos anti-CD3 humanizados por varios antígenos CD3ε.

La FIGURA 11 es una tabla que resume la afinidad de unión de los anticuerpos anti-CD3 humanizados 38E4v1 a 38E4v9 y 40G5c, medida mediante Biacore con CD3ε humano sobre placa y anticuerpos anti-CD3 en el flujo pasante.

La FIGURA 12A es una tabla que resume las afinidades de unión relativas para mutantes individuales de alanina, serina, treonina o glutamato del anticuerpo anti-CD3 humanizado 38E4v1 que tiene una sola mutación o bien en la HVR-L3 o en la HVR-H3, en comparación con 38E4v1 usando análisis cinético Biacore de un solo ciclo o convencional de múltiples ciclos.

La FIGURA 12B muestra las secuencias de aminoácidos de HVR-L3 (parte superior) y HVR-H3 (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 humanizado 38E4v1.

La FIGURA 13A es una serie de gráficas que muestran la unidad relativa del anticuerpo anti-CD3 indicado a variantes de alanina de CD3ε¹⁻²⁷-Fc.

La FIGURA 13B es una gráfica que muestra la fracción relativa de mutantes de fagémido de barrido de alanina de CD3ε y unidos a los anticuerpos anti-CD3 38E4.v1, 40G5c y SP34.v52, en comparación con la unión a fago CD3ε de tipo silvestre.

La FIGURA 13C es una serie de gráficas que muestran la unión relativa de los anticuerpos anti-CD3 38E4.v1, 40G5c y SP34.v52 a mutantes seleccionados de fagémido de barrido de alanina de CD3ε en función de la concentración de fago.

La FIGURA 13D es un conjunto de tablas que muestran las afinidades de unión relativas de los anticuerpos anti-CD3 SP34.v52 y 38E4v1 a mutantes de barrido de alanina de CD3ε seleccionados, determinadas mediante Biacore. NB = sin unión detectable.

La FIGURA 14A muestra la secuencia del polipéptido 16-mero de CD3ε usado en los ensayos de cocrystalización con 38E4.v1 Fab.

Las FIGURAS 14B-14F son una serie de renderizados de la estructura cristalina que muestran diferentes vistas del complejo hu38E4.v1 Fab/péptido CD3ε.

La FIGURA 14G es un alineamiento de secuencia de las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera (parte superior) y dominio variable de cadena pesada (parte inferior) de los anticuerpos anti-CD3 hu40G5c y hu38E4.v1, con los restos de cada anticuerpo que son importantes para la unión a CD3 (restos de contacto) rodeados por un círculo en el alineamiento. Se observó que los restos rodeados por un círculo se encuentran a menos de 5 Å del péptido de CD3, como se determina mediante el análisis cristalográfico. Δ indica las posiciones de Vernier (por referencia, véase, por ejemplo, Foote y Winter. *JMB.* 224: 487, 1992); * indica interacciones FW-HVR (por referencia, véase, por ejemplo, Padlan et al. *Mol. Immunol.* 31: 169, 1994); y • indica interacciones VH-VL (por referencia, véase, por ejemplo, Padlan et al. *Mol. Immunol.* 31: 169, 1994).

La FIGURA 14H es un renderizado de la estructura cristalina del polipéptido CD3ε unido al Fab hu38E4.v1. Todos los restos de contacto con el antígeno se representan en amarillo. Todos los restos de contacto son idénticos entre hu38E4.v1 y hu40G5, excepto por que G96 (representado en color naranja) es S96 en hu40G5.

Las FIGURAS 14I y 14J son renderizados de diagramas de cintas de las estructuras cristalinas del Fab hu38E4.v1 y el Fab SP34v52, respectivamente, en la misma orientación, superpuestas con la región VL con un RMS = 2,24.

La FIGURA 14K es una renderización de modelo de relleno espacial del Fab hu38E4.v1 en complejo con el péptido N-terminal de CD3ε unido en el surco entre las cadenas pesada (cian) y ligera (púrpura).

La FIGURA 14L es una renderización de modelo de relleno espacial del Fab SP34v52 con el péptido N-terminal de CD3ε superpuesto en la misma orientación que en el complejo de CD3ε/Fab hu38E4.v1 representado en la figura 14K. Los restos R50 y R52 (en naranja) de la HVR-H2 del Fab SP34v52 son importantes para la unión a CD3. Los choques evidentes del péptido de CD3 con el Fab SP34v52 se indican mediante flechas.

La FIGURA 14M es una renderización de estructura cristalina del hu38E4.v1 en complejo con el péptido N-terminal de CD3ε y ilustra las interacciones intermoleculares clave implicadas en el primer resto de piroglutamato y el

sexto resto (E6) en CD3 $\epsilon\gamma$. Los potenciales enlaces de hidrógeno se muestran como líneas discontinuas.

La FIGURA 14N es una renderización de modelo de relleno espacial del Fab hu38E4.v1 en complejo con el péptido N-terminal de CD3 $\epsilon\gamma$ unido en el surco entre las cadenas pesada (cian) y ligera (púrpura). El quinto resto (E5) ilustrado, está orientado hacia fuera del sitio interactivo que contiene el sexto resto (E6) del complejo del péptido N-terminal de CD3 $\epsilon\gamma$ y el Fab.

La FIGURA 15 representa una generalización esquemática de la formación de anticuerpo TDB. El TDB particular representado se muestra como un TDB de longitud completa en formato de botón en ojal (KIH), que puede poseer una mutación de aglucosilación, si se produce por una célula eucariota (por ejemplo, una célula CHO). En un formato alternativo, el botón puede estar presente en el brazo de anti-CD3 y el ojal puede estar presente en el brazo de antígeno antitumoral. Este formato también puede poseer una mutación de aglucosilación, si se produce por una célula eucariota (por ejemplo, una célula CHO).

La FIGURA 16 son gráficas que muestran los resultados de ensayos de unión de FACS *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones brazos de anti-CD3 de la serie UCHT1 y brazos de anti-CD20 de la serie 2H7. Unión a la línea celular de tumor B Bjab (unión a CD20), izquierda. unión a células Jurkat (unión a CD3), derecha.

La FIGURA 17 es un conjunto de tablas que resumen las afinidades de unión monovalentes (parte superior) y (bivalentes) como valores de Kd para diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 de la serie UCHT1 y brazos de anti-CD20 de la serie 2H7.

La FIGURA 18 es una gráfica que muestra los resultados de ensayos FACS de unión a células Jurkat (unión a CD3) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 19 es una gráfica que muestra los resultados de ensayos FACS de unión a células Jurkat (unión a CD3) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 20 es una gráfica que muestra los resultados de ensayos FACS de unión a células Bjab (unión a CD20) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

Las FIGURAS 21A y 21B son gráficas que muestran los resultados de ensayos FACS de unión a células Jurkat (unión a CD3) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 21C es una tabla que resume la CE50 ($\mu\text{g/ml}$) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 21A y 21B.

Las FIGURAS 22A y 22B son gráficas que muestran los resultados de ensayos FACS de unión a células Bjab (unión a CD20) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 23 es una gráfica que muestra los resultados de ensayos FACS de unión a células Jurkat (unión a CD3) *in vitro* de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 24 es una tabla que resume las afinidades de unión para varios TDB y Fab para CD3/CD20, medidas mediante análisis Biacore con CD3 $\epsilon\gamma$ humano sobre placa y TDB o Fab para CD3/CD20 en el flujo pasante.

La FIGURA 25A es una gráfica que muestra el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie 2H7) con 20.000 células Bjab y linfocitos T huCD8+ purificados 5x.

La FIGURA 25B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de Bjab en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie 2H7) con 20.000 células Bjab y linfocitos T huCD8+ purificados 5x, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 26A es una gráfica que muestra el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie 2H7) con 200.000 PBMC humanas por pocillo.

La FIGURA 26B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de linfocitos B endógenos (endo) en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie 2H7) con 200.000 PBMC humanas por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 27A es una gráfica que muestra el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie UCHT1) con 20.000 células Bjab y linfocitos T huCD8+ purificados 5x.

La FIGURA 27B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de Bjab en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie UCHT1) con 20.000 células Bjab y linfocitos T huCD8+ purificados 5x, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 28A es una gráfica que muestra el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie UCHT1) con 200.000 PBMC humanas por pocillo.

La FIGURA 28B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de linfocitos B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de los TDB para CD3/CD20 especificados (serie UCHT1) con 200.000 PBMC humanas por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 29A es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de linfocitos B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen

La FIGURA 37C es una tabla que resume la CE50 de activación de linfocitos T CD8+ (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 37A y 37B.

Las FIGURAS 38A y 38B son gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 1) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 38C es una tabla que resume la CE50 de eliminación de linfocitos B endo (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 38A y 38B.

Las FIGURAS 39A y 39B son gráficas que muestran el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 48 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 1) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 39C es una tabla que resume la CE50 de activación de linfocitos T CD8+ (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 39A y 39B.

Las FIGURAS 40A y 40B son gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 48 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 1) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 40C es una tabla que resume la CE50 de eliminación de linfocitos B endo (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 40A y 40B.

Las FIGURAS 41A y 41B son gráficas que muestran el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 24 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 41C es una tabla que resume la CE50 de activación de linfocitos T CD8+ (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 41A y 41B.

Las FIGURAS 42A y 42B son gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 24 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 42C es una tabla que resume la CE50 de eliminación de linfocitos B endo (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 42A y 42B.

Las FIGURAS 43A y 43B son gráficas que muestran el porcentaje de activación de linfocitos T, medido mediante la expresión superficial de CD69 y CD25, después de 48 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 43C es una tabla que resume la CE50 de activación de linfocitos T CD8+ (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 43A y 43B.

Las FIGURAS 44A y 44B son gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de B endo en relación con un control no tratado con TDB, después de 48 horas de incubación de diversos TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16, con 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 44C es una tabla que resume la CE50 de eliminación de linfocitos B endo (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado en las figuras 44A y 44B.

La FIGURA 45A es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 72H6, no muestran potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de Bjab.

Las FIGURAS 45B y 45C son gráficas que muestran que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 72H6, no muestran potencia *in vitro*, evaluada por la eliminación de linfocitos B endo (B) y ensayos de activación de linfocitos T (C).

La FIGURA 46A es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 13A3, muestran baja potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de Bjab.

La FIGURA 46B es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 30A1, muestran baja potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de Bjab.

La FIGURA 46C es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 41D9a, muestran baja potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de Bjab. se muestran los valores de CE50 de eliminación de células Bjab (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado.

La FIGURA 46D es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 41D9a, muestran baja potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de linfocitos B endo. Se muestran los valores de CE50 de eliminación de linfocitos B endo (ng/ml) para cada TDB para CD3/CD20 ensayado.

La FIGURA 46E es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como uno que tenga un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de 41D9a, muestran baja potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos

de activación de linfocitos T.

La FIGURA 47A es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como TDB que tienen un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de UCHT1v9, 21A9 y 40G5c, muestran alta potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de linfocitos B endo usando 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 1) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 47B es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como TDB que tienen un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de UCHT1v9, 21A9 y 40G5c, muestran alta potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de activación de linfocitos T usando 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 1) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 48A es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como TDB que tienen un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de UCHT1v9, 21A9 y 40G5c, muestran alta potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de eliminación de linfocitos B endo usando 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 48B es una gráfica que muestra que ciertos TDB para CD3/CD20, tales como TDB que tienen un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y un brazo anti-CD3 de UCHT1v9, 21A9 y 40G5c, muestran alta potencia *in vitro*, evaluada mediante ensayos de activación de linfocitos T usando 200.000 PBMC humanas (aisladas del donante n.º 2) por pocillo, medida mediante análisis FACS.

La FIGURA 49 es una tabla que resume las potencias *in vitro* de varios TDB para CD3/CD20 que tienen diferentes combinaciones de brazos anti-CD3 con el brazo anti-CD20 de 2H7v16.

La FIGURA 50 muestra las secuencias de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera (parte superior) y el dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD20 2H7.v16.

La FIGURA 51 muestra las secuencias de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera (parte superior) y el dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-CD3 hu40G5c.

Las FIGURAS 52A y 52B muestran que el TDB para CD3/CD20 (40G5c/2H7v16) no tiene formación de agregados detectable determinada mediante cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) (A) y ausencia de formación de homodímero detectable (es decir, formación de anticuerpo para CD3/CD3 o CD20/CD20) evaluada mediante espectrometría de masas (B).

La FIGURA 53A es una gráfica que muestra la farmacocinética de concentraciones séricas de TDB para CD3/CD20 a diversas dosis en ratas Spague Dawley (SD) con el paso del tiempo (en días), evaluada mediante la farmacocinética de inmunoglobulina genérica (GRIP) o un ensayo específico.

La FIGURA 53B es una tabla que resume los valores de eliminación cuantificados (ml/día/kg) de los anticuerpos TDB para CD3/CD20 a cada dosis ensayada en la figura 53A.

La FIGURA 54A es una gráfica que muestra que la porción $F(ab')_2$ del TDB para CD20 conservó la misma potencia que la IgG TDB para CD20 en la eliminación de linfocitos B (eliminación de Bjab) *in vitro*. Se incubaron 20.000 células Bjab y 200.000 PBMC aisladas de donante sano con diversas concentraciones de TDB para CD20 de longitud completa o $F(ab')_2$ de TDB para CD20 durante 24 horas.

La FIGURA 54B es una gráfica que muestra que la actividad de eliminación de linfocitos B de TDB para CD20 es dependiente de linfocitos T, ya que no se detectó eliminación de linfocitos B con PBMC con reducción de linfocitos T CD3+. 20.000 células Bjab y 200.000 PBMC aisladas de un donante sano o 200.000 PBMC con reducción de linfocitos T CD3+, se incubaron con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas.

La FIGURA 54C es una gráfica que muestra que puede lograrse una eliminación comparable de linfocitos B con linfocitos T CD4+ o CD8+ como efectores. 20.000 células Bjab y 100.000 linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ purificados se incubaron con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas. Se midieron y calcularon la eliminación celular y la activación de linfocitos T marcados como CD69+CD25+ como se describe más adelante.

La FIGURA 54D es una gráfica que muestra que el TDB para CD20 tiene la capacidad de activar linfocitos T tanto CD4+ como CD8+. 20.000 células Bjab y 100.000 linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ purificados se incubaron con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas. Se midieron y calcularon la eliminación celular y la activación de linfocitos T marcados como CD69+CD25+ como se describe más adelante.

La FIGURA 54E es una gráfica que la regulación positiva de granzima es más prevalente entre linfocitos T CD8+ tras la adición de TDB para CD20. 20.000 células Bjab y 100.000 linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ purificados se incubaron con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas. La inducción de granzima B también se detectó mediante FACS.

La FIGURA 54F es una gráfica que muestra que se asocia un mayor nivel de liberación de perforina con los linfocitos T CD8+ tras la adición de TDB para CD20. 20.000 células Bjab y 100.000 linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ purificados se incubaron con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas. La concentración de perforina en los medios se midió mediante ELISA.

La FIGURA 55 es una serie de gráficas de citometría de flujo que muestra que los linfocitos T activados tienen capacidad de proliferación en presencia de TDB para CD20 y de células Bjab.

La FIGURA 56A es una serie de gráficas que muestran las curvas de respuesta a la dosis de eliminación de linfocitos B de 8 líneas celulares tumorales de leucemia/linfoma B (izquierda) y los niveles de expresión de CD20 para las líneas de linfocitos B dadas, con un control de isotipo en gris, medida mediante FACS. Los linfocitos B se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 %. Para el ensayo de eliminación, se incubaron 20.000 linfocitos B con 200.000 PBMC aisladas de donante sano con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 24 horas.

La FIGURA 56B es una gráfica que muestra un amplio intervalo en la expresión media de CD20 en las 8 líneas

de linfocitos B ensayadas en la figura 56A. Se incubaron linfocitos T CD4+ o T CD8+, purificados de sangre entera de donante sano y marcados con CFSE, solos, solo con Bjab, solo con TDB para CD20 o con Bjab y TDB para CD20 durante 24 horas en primer lugar, después se lavaron las células y se pusieron en medio fresco durante otras 48 horas. La intensidad de CFSE de los linfocitos T se detectó mediante FACS, mostrando proliferación de linfocitos T solo en presencia de Bjab y TDB para CD20.

La FIGURA 56C es un conjunto de gráficas que muestran que el TDB para CD20 es potente en la eliminación de las 8 líneas de una manera dependiente de la dosis, con valores de CE50 de eliminación de linfocitos B (ng/ml) (parte superior) y el porcentaje de eliminación de linfocitos B (parte inferior) representado en función de la expresión de CD20 en el linfocito B diana.

La FIGURA 56D es una gráfica que muestra que los TDB dirigidos a 5 antígenos de linfocitos B son comparables a la hora de mediar la eliminación por linfocitos T de células Bjab. Los linfocitos B se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 %. Para el ensayo de eliminación, se incubaron 20.000 células Bjab con 100.000 linfocitos T CD8+ purificados de donante sano con un TDB para CD20 (TDB A: 2H7v16/UCHT1v9) o un TDB dirigido a un antígeno de linfocitos B diferente (es decir, los TDB B-E, cada uno dirigido a un antígeno diferente de linfocito B) a una concentración de 1000 ng/ml durante 24 horas.

La FIGURA 56E es una gráfica que muestra el alcance de eliminación de linfocitos B para 10 líneas celulares tumorales de leucemia/linfoma B. Los linfocitos B se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 %. Para el ensayo de eliminación, se incubaron 20.000 linfocitos B con 100.000 linfocitos T CD8+ purificados de donante sano y 1000 ng/ml de TDB para CD20 (2H7v16/UCHT1v9) durante 24 horas.

La FIGURA 56F es una gráfica que muestra las curvas de eliminación de respuesta a la dosis para 8 donantes aleatorios.

La FIGURA 56G es una gráfica de resumen para la CE50 (izquierda) y el alcance de eliminación de linfocitos B (derecha) con 1000 ng/ml de anticuerpo en un ensayo de 24 horas para 30 donantes.

La FIGURA 56H es un conjunto de gráficas que muestra que el alcance de la eliminación de linfocitos B en 24 horas por el TDB para CD20 es muy comparable con o mayor que la eliminación de linfocitos B mediante scFv para CD19. Para la eliminación de linfocitos B autólogos, se incubaron 200.000 PBMC aisladas de donante sano durante 24 horas con TDB para CD20 a la concentración indicada. La eliminación celular informada se calculó como se describe más adelante.

La FIGURA 56I es un conjunto de gráficas que muestran que el alcance de la eliminación de linfocitos B en 24 horas por el TDB para CD20 es comparable con o mayor que la eliminación de linfocitos B por CD19-TDB o CD22-TDB (panel superior) o CD79a o CD79b (panel inferior). Para la eliminación de linfocitos B autólogos, se incubaron 200.000 PBMC aisladas de donante sano con 40.000 células Bjab durante 24 horas con TDB para CD20, CD19, CD22, CD79a o CD 79b a la concentración indicada. La eliminación celular informada se calculó como se describe más adelante.

La FIGURA 57A es una serie de gráficas que muestran los valores de expresión relativos para CD3ε humano detectado en linfocitos T CD4+ (panel izquierdo) y linfocitos T CD8+ (panel central); y CD20 humano en linfocitos B CD19+ (panel derecho) detectados en PBMC de ratón (mu) o humanas (hu), medidos mediante FACS. Las PBMC de ratón procedían de sangre de ratones dobles transgénicos para huCD3/huCD20; las PBMC humanas procedían de sangre de donante sano.

La FIGURA 57B es una gráfica que muestra que el TDB para CD20 no puede acoplar linfocitos B para reducir los linfocitos B sin expresión de CD3 humano en ratones transgénicos para CD20 humano. Se trataron ratones transgénicos para huCD20 o ratones doble transgénicos para huCD20/CD3 una vez por vía intravenosa con anticuerpos del modo indicado (10 mg/kg para rituximab, 0,5 mg/kg para TDB para CD20 y TDB para HER2). Los bazo de ratón se recogieron en D7 (7 días después del tratamiento con anticuerpo). El anticuerpo anti-CD20 humano, rituximab, se usa como control positivo. TDB para CD3/HER2 se usa como control negativo de isotipo.

La FIGURA 57C es una gráfica que muestra que el TDB para CD20 tiene la capacidad de acoplar linfocitos T murinos que expresan huCD3 en ratones doble transgénicos para CD3/CD20 humano para reducir potentemente los linfocitos B murinos que expresan huCD20. Se trataron ratones transgénicos para huCD20 o ratones doble transgénicos para huCD20/CD3 una vez por vía intravenosa con anticuerpos del modo indicado (10 mg/kg para rituximab, 0,5 mg/kg para TDB para CD20 y TDB para HER2). Los bazo de ratón se recogieron en D7 (7 días después del tratamiento con anticuerpo). TDB para CD3/HER2 se usa como control negativo de isotipo.

La FIGURA 58A es una serie de gráficas de un estudio de transcurso temporal que muestra que el tratamiento con TDB para CD20 dio como resultado una reducción sostenida de linfocitos B hasta el D15 (15 días después de la dosis). Se trataron una vez ratones doble transgénicos para huCD20/huCD3 por vía intravenosa con varias dosis de TDB para CD20. Se recogió sangre de ratón (D1, D8 y D15).

La FIGURA 58B es una gráfica que muestra que solo se logró una reducción prácticamente completa de linfocitos B en bazo de ratón en el D7 después de una sola dosis de 0,5 mg/kg, mientras que una dosis menor de 0,05 mg/kg solo dio como resultado una reducción parcial de los linfocitos B en el bazo. Se trataron ratones doble transgénicos para huCD20/CD3 una vez por vía intravenosa con diversas dosis de TDB para CD20. Se recogieron los bazo (D7).

La FIGURA 58C es una gráfica que muestra que se observa una robusta reducción de linfocitos B en el D7 en la circulación de ratones doble transgénicos para huCD3/huCD20 tratados con TDB para CD20. Los ratones doble transgénicos para huCD20/huCD3 se trataron una vez por vía intravenosa con 0,5 mg/kg de TDB para CD20. Se recogió sangre en D0-5 min (5 minutos después del tratamiento), D0-2 h, D0-8 h, D1, D2, D3 y D7. Los linfocitos B que expresan huCD20 se midieron mediante FACS.

La FIGURA 58D es una serie de gráficas que muestran la activación de linfocitos T en ratones doble transgénicos

para huCD3/huCD20 tratados con un TDB para CD20. Los ratones doble transgénicos para huCD3/huCD20 tratados mostraron un aumento de hasta el 80 % en el recuento de linfocitos T CD8+ que expresan CD3ε humano a las 2 horas después del tratamiento con TDB para CD20, que volvieron al nivel inicial en D2 y D7 (panel superior). De manera similar, los linfocitos T CD4+ que expresan CD3ε humano aumentaron en un 80 % 2 horas después del tratamiento con TDB para CD20 y posteriormente volvieron al nivel inicial en D2. Se trataron ratones doble transgénicos para huCD3/huCD20 una vez por vía intravenosa con 0,5 mg/kg de TDB para CD20. Se recogió sangre en D0-5 min (5 minutos después del tratamiento), D0-2 h, D0-8 h, D1, D2, D3 y D7. Los linfocitos T CD4+ y CD8+ que expresaban CD3ε se midieron mediante FACS.

La FIGURA 59A es una serie de gráficas de citometría de flujo que muestran que el TDB para CD20 reduce los linfocitos B de zona marginal (MZB) igual de eficientemente que los linfocitos B foliculares (FOB) después de la administración de TDB a ratones doble transgénicos para huCD3/huCD20. Dos animales doble transgénicos (paneles izquierdo y derecho, respectivamente) se trataron con vehículo (paneles superiores) o una sola dosis intravenosa de 0,5 mg/kg de TDB (paneles inferiores). Los bazo de ratón se recogieron en D7 y se analizaron mediante FACS.

La FIGURA 59B-59E es una serie de gráficas que muestran que el TDB para CD20 reduce los linfocitos B de zona marginal (MZB) (B) igual de eficientemente que los linfocitos B foliculares (FOB) (C) después de una sola dosis intravenosa de 0,5 mg/kg de TDB, junto con la activación de linfocitos T CD8+ (D) y la proliferación de linfocitos T CD8+ (E) en el bazo en los puntos de tiempo indicados. Los bazo de ratón se recogieron en D1, D2, D3, D5, D7 y D14.

La FIGURA 60A es una gráfica que muestra que los ratones NSG humanizados tratados con 3 dosis semanales de TDB para CD20 a 0,5 mg/kg (situación de dosis repetida) mostraron niveles reducidos de linfocitos B en la sangre en D7, sin detectarse prácticamente linfocitos B en D21. Se trataron ratones NSG humanizados con 3 dosis de 0,5 mg/kg de TDB para CD20 semanalmente por vía intravenosa. Se recogió sangre en D-5 (5 días antes del tratamiento), D7, D14 y D21. Los recuentos de linfocitos B murinos en sangre se midieron mediante FACS.

La FIGURA 60B es una gráfica que muestra que se observa una robusta reducción de linfocitos B en D21 en bazo de ratones NSG humanizados tratados con TDB para CD20. Se trataron ratones NSG humanizados con 3 dosis de 0,5 mg/kg de TDB para CD20 semanalmente por vía intravenosa. Los bazo se recogieron en D21. Los recuentos de linfocitos B murinos en bazo se midieron mediante FACS.

La FIGURA 60C es una serie de gráficas de citometría de flujo que muestran que los linfocitos T huCD8+ humanos proliferan y que los linfocitos B huCD19+ se reducen 7 días después del tratamiento (D7) de los ratones NSG humanizados con TDB para CD20. Los ratones NSG humanizados se trataron con vehículo o 0,5 mg/kg de TDB para CD20 (2H7v16/UCHT1v9). Se recogieron los bazo de ratones NSG humanizados tratados con el control y con TDB para CD20 en D7. Los linfocitos B que expresan huCD19 y los linfocitos T que expresan huCD8 se midieron mediante FACS.

La FIGURA 60D es una gráfica que muestra que los ratones NSG humanizados tratados con 3 dosis semanales de TDB para CD20 a 0,5 mg/kg (situación de dosis repetida) mostraron un aumento de hasta 10 veces en el recuento de linfocitos T CD8+ en D7, que volvieron al nivel inicial o menor en D14 y D21. Se trataron ratones NSG humanizados con 3 dosis de 0,5 mg/kg de TDB para CD20 semanalmente por vía iv. Se recogió sangre en D-5 (5 días antes del tratamiento), D7, D14 y D21. Los recuentos de linfocitos T CD8+ murinos en la sangre y la activación de linfocitos T se midieron mediante FACS.

La FIGURA 60E es una serie de gráficas de citometría de flujo que muestra los niveles iniciales de linfocitos B huCD20+ (paneles centrales) y de linfocitos T huCD8+ y huCD4+ (paneles derechos) de 2 ratones NSG humanizados, medidos mediante FACS.

La FIGURA 60F es una serie de gráficas que muestran los niveles de expresión en la superficie celular de huCD3ε y CD20 en linfocitos B CD19+ (izquierda), linfocitos T CD8+ (centro) y linfocitos T CD4+ (derecha), detectados mediante FACS.

La FIGURA 61A es una gráfica que muestra que el TDB para CD20 es potente a la hora de eliminar linfocitos B de CLL con linfocitos T autólogos. Se incubaron 200.000 PBMC con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 48 horas en medio RPMI suplementado con FBS al 10 %.

La FIGURA 61B es una gráfica que muestra que el TDB para CD20 es potente a la hora de inducir activación de linfocitos T autólogos en presencia de linfocitos B de CLL. Se incubaron 200.000 PBMC con diversas concentraciones de TDB para CD20 durante 48 horas en medio RPMI suplementado con FBS al 10 %.

La FIGURA 61C es un conjunto de gráficas que muestran que el recuento de linfocitos T está altamente correlacionado con la eliminación de linfocitos B de CLL *ex vivo*. Se incubaron 200.000 PBMC con 1000 ng/ml de TDB para CD20 durante 48 horas, o bien solo o con linfocitos T CD8+ añadidos purificados de un donante sano. El porcentaje de linfocitos B CD19+CD5+ y de linfocitos T CD8+ en PBMC de CLL es del 90/0,55 para la muestra A1645, del 76/3,5 para A1957, del 87/0,63 para A1978, del 69/1,3 para A1980. La eliminación celular, la inducción de granzima B y la activación de linfocitos T se midieron mediante FACS como se describe más adelante.

La FIGURA 62A es un conjunto de gráficas que muestran que la activación de linfocitos T (izquierda) después de dosis de 0,1 mg/kg o 0,5 mg/kg de TDB para CD20 a ratones NSG con injerto de células de leucemia de CLL se correlacionó con la potente eliminación de linfocitos B de CLL injertados (derecha).

La FIGURA 62B es un conjunto de imágenes de inmunohistoquímica de secciones de bazo de ratones NSG con células de leucemia de CLL injertadas, que muestran que pueden detectarse pocos linfocitos B después del tratamiento con TDB para CD20. Los linfocitos B y linfocitos T se injertaron en ratones NSG como se describe más adelante. Los ratones se trataron una vez por vía intravenosa con TDB para HER2 y rituximab a 0,5 mg/kg, TDB para CD20 a 0,1 y 0,5 mg/kg y se recogieron los bazo para el análisis FACS 14 días después del tratamiento.

La FIGURA 63 es una gráfica que muestra el volumen tumoral ajustado con el paso del tiempo de tumores injertados de Bjab de ratones SCID para el grupo 1 (vehículo: Histidina/acetato 20 mM a pH 5,5, sacarosa 240 mM, Tween 20 al 0,02 %); el grupo 2 (TDB para CD20: 2H7v114/UCHT1.v9; 0,5 mg/kg); el grupo 3 (vehículo: Histidina/acetato 20 mM a pH 5,5, sacarosa 240 mM, Tween 20 al 0,02 %, PBMC); y el grupo 4 (TDB para CD20: CD20 2H7v114/CD3 UCHT1.v9; 0,5 mg/kg, PBMC). Las células efectoras fueron PBMC procedentes de un donante humano sano. Los ratones se trataron una vez a la semana durante dos semanas.

La FIGURA 64A es una gráfica que muestra el nivel relativo de expresión de CD20 en células Bjab, NALM-6, SC-1 y OCI-LY 19. Los linfocitos B y linfocitos T se injertaron en ratones NSG como se describe más adelante. Los ratones se trataron una vez por vía intravenosa con TDB para HER2 y rituximab a 0,5 mg/kg, TDB para CD20 a 0,1 y 0,5 mg/kg y se recogieron los bazo para el análisis IHC 14 días después del tratamiento.

La FIGURA 64B es una gráfica que muestra que rituximab y TDB para CD20 tienen una eficacia comparable para la eliminación de células Bjab *in vitro*, que expresan un alto nivel de CD20 en su superficie celular. Se redujeron los linfocitos B de las PBMC aisladas de un donante sano y se usaron como células efectoras en el ensayo de eliminación celular *in vitro*. Se incubaron 20.000 linfocitos B y 200.000 células efectoras con diversas concentraciones de TDB para CD20 o de rituximab durante 24 horas. La expresión de TDB para CD20 se detectó mediante FACS.

La FIGURA 64C es una gráfica que muestra que el TDB para CD20, pero no rituximab, tiene la capacidad de eliminar células NALM-6, SC-1 y OCILY 19, que tienen niveles relativamente bajos de CD20 en su superficie celular. Se redujeron los linfocitos B de las PBMC aisladas de un donante sano y se usaron como células efectoras en el ensayo de eliminación celular *in vitro*. Se incubaron 20.000 linfocitos B y 200.000 células efectoras con diversas concentraciones de TDB para CD20 o de rituximab durante 24 horas. La expresión de TDB para CD20 se detectó mediante FACS.

La FIGURA 64D es una gráfica que muestra los niveles de expresión en la superficie de linfocitos B de antígeno CD20 no bloqueado en función de la concentración de rituximab-DANA, medida mediante FACS. Se trataron ratones doble transgénicos para CD20/CD3 con una sola dosis de rituximab-DANA (10 mg/kg). Los bazo se recogieron 5 días después del tratamiento.

Las FIGURAS 65A y 65B son gráficas que muestran que el TDB para CD20 es activo a la hora de eliminar linfocitos B *in vitro* en presencia de altos niveles de rituximab (A) o de dexametasona (B). En primer lugar, se incubaron 200.000 PBMC de donante sano con rituximab-DANA a la concentración indicada durante 1 hora, después, se añadió TDB para CD20 y se incubó durante 24 horas. Para el ensayo con dexametasona, se pretrataron las células con dexametasona 1 μ M durante una noche antes de añadir TDB para CD20. La eliminación celular se calculó como se describe más adelante.

La FIGURA 66 es un conjunto de gráficas que muestran que el TDB para CD20 es activo a la hora de eliminar linfocitos B en sangre (izquierda) y bazo (derecha) en ratones pretratados con rituximab-DANA. Para el tratamiento con un solo agente, se trataron ratones doble transgénicos para huCD20/CD3 una vez por vía intravenosa a la dosis indicada; para el tratamiento combinado, en primer lugar se trató a los ratones por vía intravenosa con rituximab-DANA y se inyectó el TDB para CD20 por vía intravenosa 30 minutos después. Se recogió sangre en D-7, D0-2h (2 horas después del tratamiento con TDB) y D7; los bazo se recogieron en D7. Los recuentos de linfocitos B se midieron mediante FACS como se describe más adelante.

La FIGURA 67A es un conjunto de gráficas que muestran los recuentos de linfocitos B (izquierda), linfocitos T CD4+ (parte intermedia) y linfocitos T CD8+ (derecha) en muestras de sangre de 3 monos cinomolgos antes y 7 días después del tratamiento con una sola dosis intravenosa de 1 mg/kg de TDB para CD20. Se trataron tres monos cinomolgos una vez por vía intravenosa con 1 mg/kg de TDB para CD20. Se recogió sangre en D-7 (7 días antes de la dosis), D0-4hr (4 justo después de la dosis) y D7.

La FIGURA 67B es un conjunto de gráficas que muestran los niveles de linfocitos B, linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ en el bazo (izquierda), ganglios linfáticos mandibulares (en medio) y ganglios linfáticos mesentéricos (derecha) de 3 monos cinomolgos 7 días después del tratamiento con una sola dosis intravenosa de 1 mg/kg de TDB para CD20. Se trataron tres monos cinomolgos una vez por vía intravenosa con 1 mg/kg de TDB para CD20. Se recogió sangre en D-7 (7 días antes de la dosis), D0-4hr (4 justo después de la dosis) y D7.

La FIGURA 67C es un conjunto de gráficas que muestran los niveles de linfocitos B, linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ en el bazo (izquierda), ganglios linfáticos mandibulares (en medio) y ganglios linfáticos mesentéricos (derecha) de 3 monos cinomolgos antes del tratamiento con una sola dosis intravenosa de 1 mg/kg de TDB para CD20. Se trataron tres monos cinomolgos una vez por vía intravenosa con 1 mg/kg de TDB para CD20. Se recogió sangre en D-7 (7 días antes de la dosis), D0-4hr (4 justo después de la dosis) y D7. La FIGURA 67D es un conjunto de gráficas que muestran los niveles iniciales de linfocitos B y linfocitos T CD4+ y CD8+ como porcentaje de los linfocitos totales detectados en el bazo (izquierda) y los ganglios linfáticos mandibulares (derecha) en animales tratados con control de vehículo.

La FIGURA 68A es un conjunto de gráficas que muestran la concentración sérica de TDB para CD20 de muestras de sangre y suero recogidas de cuatro monos cinomolgos que se trataron 4 veces a la semana con 1 mg/kg de TDB para CD20 mediante administración intravenosa.

La FIGURA 68B es un conjunto de gráficas que muestran la concentración de TDB para CD20 de muestras de suero recogidas de los animales descritos en las figuras 65 y 66A. Se representaron las medias $\pm$ d.t.

La FIGURA 69A es un histograma que muestra la expresión de PD-L1 en células A20-huCD20 de ratones Balb/C singénicos para A20-huCD20, evaluada mediante citometría de flujo.

La FIGURA 69B es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo); el grupo 2 (TDB para CD20 a 0,5 mg/kg); el grupo 3 (anticuerpo anti-PD-L1 a 10 mg/kg); y el grupo 4

(TDB para CD20 a 0,5 mg/kg + anticuerpo anti-PD-L1). La FIGURA 70 es una gráfica que muestra las curvas de unión para cada uno de los tres TDB para FcRH5 ensayados respecto de su unión *in vitro* a linfocitos T CD8+ que expresan CD3.

La FIGURA 71A es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana MOLP-2 en función de la concentración de TDB para FcRH5, con linfocitos T CD8+ purificados de PBCM humanas del donante n.º 1.

La FIGURA 71B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana MOLP-2 en función de la concentración de TDB para FcRH5, con linfocitos T CD8+ purificados de PBCM humanas del donante n.º 2.

La FIGURA 72A es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+ en función de la concentración de TDB para FcRH5, evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron MOLP-2 y los linfocitos T CD8+ se purificaron del donante n.º 1.

La FIGURA 72B es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD107a+ en función de la concentración de TDB para FcRH5, evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron MOLP-2 y los linfocitos T CD8+ se purificaron del donante n.º 1.

La FIGURA 72C es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+ en función de la concentración de TDB para FcRH5, evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron MOLP-2 y los linfocitos T CD8+ se purificaron del donante n.º 2.

La FIGURA 72D es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD107a+ en función de la concentración de TDB para FcRH5, evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron MOLP-2 y los linfocitos T CD8+ se purificaron del donante n.º 2.

La FIGURA 73 es un conjunto de gráficas que muestran las curvas de unión para cada uno de los tres TDB para HER2 ensayados respecto de su unión *in vitro* a células SKBR3 que expresan Her2 (parte superior) y linfocitos T CD8+ que expresan CD3 (parte inferior).

La FIGURA 74A es una gráfica que muestra las curvas de unión para trastuzumab (bivalente), trastuzumab (Fab) y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) (biespecífico) para la unión *in vitro* a células que SKBR3 que expresan Her2.

La FIGURA 74B es una gráfica que muestra el porcentaje de células SKBR3 viables en función de o para la concentración de trastuzumab (bivalente), trastuzumab (Fab) y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) (biespecífico), evaluada mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CELLTITERGLO®.

La FIGURA 74C es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 mediada por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) en presencia de trastuzumab (T-mab), trastuzumab producido en *E. coli* (T-mab *E. coli*) y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), evaluada mediante liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) de células lisadas.

La FIGURA 75 es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (hu4D5-TDB, hu4D5.91A-TDB y hu4D5.Y100A-TDB).

La FIGURA 76A es una serie de paneles. El panel superior es una renderización de la estructura cristalina del dominio extracelular (ECD) de HER2 unido al Fab hu4D5 (trastuzumab), el Fab 2C4 (Pertuzumab) y 7C2. El panel inferior es una estructura de cintas del CD3ε unido a 2C11, 38E4v1 y 40G5c.

La FIGURA 76B es una tabla que indica las afinidades de unión, representadas por la constante de disociación K_D (nM), de HER2-TDB para tres brazos de HER2 diferentes: hu4D5, 2C4 y 7C2. El panel inferior derecho es una tabla que indica las afinidades de unión, representadas por la constante de disociación K_D (nM), de HER2-TDB para tres diferentes brazos de CD3ε: 38E4v1, 40G5c y 2C11.

La FIGURA 76C es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana MCF7 que expresan HER2 en función de la concentración de HER2-TDB (hu4D5-TDB, 2C4-TDB y 7C2-TDB). La citotoxicidad se midió por la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH).

La FIGURA 77 es una gráfica que muestra que los brazos para HER2 de hu4D5 y 2C4 son potentes mediadores de la eliminación celular, mostrada por el porcentaje máximo de eliminación de células diana SKBR3 logrado mediante el tratamiento con las siguientes variantes de HER2-TDB: hu4D5-38E4v1, hu4D5-40G5c, 2C4-38E4v1, 2C4-40G5c, 7C2-38E4v1 y 7C2-40G5c.

La FIGURA 78 es una serie de gráficas que muestran la potencia de variantes del HER2-TDB en la eliminación de líneas celulares SKBR3 que expresan HER2 (izquierda) y MCF7 que expresan HER2 (derecha) de una manera dependiente de la dosis, con los valores de CE50 de eliminación de células diana (pM).

La FIGURA 79 es una serie de gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 que expresan HER2 para diversos TDB con los brazos de HER2 (hu4D5, 2C4 y 7C2) emparejados con brazos de CD3 de alta afinidad (38E4v1) o de baja afinidad (40G5c) en función de la concentración de TDB (ng/ml).

La FIGURA 80 es una serie de paneles. El panel a la izquierda muestra la potencia de las variantes del HER2-TDB (hu4D5-38E4v1, 2C4-38E4v1, 7C2-38E4v1; hu4D5-40G5c, 2C4-40G5c, 7C2-40G5c) en la eliminación de líneas celulares SKBR3 que expresan HER2 y MCF7 que expresan HER2 de una manera dependiente de la dosis, con los valores de CE50 de eliminación de células diana (pM). El panel a la derecha es una tabla con la relación de la CE50 de las variantes de HER2-TDB dadas en células diana MCF7 frente a SKBR3 para tres experimentos.

La FIGURA 81 es una serie de paneles. El panel superior muestra una tabla que lista las variantes del brazo de HER2 de hu4D5 (hu4D5v7, hu4D5v5, hu4D5v10, hu4D5v31, hu4D5.Y100A) para HER2-TDB (brazo de CD3 de 40G5c) y la CE50 correspondiente (ng/ml) para la eliminación de células diana SKBR3, la afinidad de unión a HER2 (K_D , nM) además de la relación de la afinidad de unión HER2 K_D y la CE50 de eliminación de células diana SKBR3 para las variantes de hu4D5 en relación con hu4D5. El panel inferior es una gráfica que muestra la correlación entre la relación de CE50 de SKBR3 para las variantes de HER2-TDB de hu4D5 (hu4D5v7, hu4D5v5, hu4D5v10 y hu4D5v31) y la relación de K_D relativa para las variantes de HER2-TDB de hu4D5.

La FIGURA 82 es una serie de gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 y MCF7

en función de la concentración de las siguientes variantes de HER2-TDB: hu4D5-40G5c (superior izquierda), hu4D5v7-40G5c (superior central), hu4D5v5-40G5c (superior derecha), hu4D5v10-40G5c (inferior izquierda), hu4D5v31-40G5c (inferior central), hu4D5.Y100A-40G5c (inferior derecha).

La FIGURA 83 es una serie de gráficas. La gráfica a la izquierda muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración ($\mu\text{g/ml}$) de anticuerpos monoespecíficos bivalentes de bloqueo para HER2 específicos para el brazo de HER2 designado del HER2-TDB. (Anticuerpos de bloqueo de HER2: anticuerpos monoespecíficos bivalentes para hu4D5, 2C4 y 7C2. HER2-TDB: hu4D5-40G5c, 2C4-40G5c y 7C2-38E4v1 a una concentración fija: 10 ng/ml). La gráfica a la derecha muestra el porcentaje de células viables en función de la concentración del anticuerpo para HER2 (hu4D5) trastuzumab en presencia y ausencia del HER2-TDB hu4D5-40G5c.

La FIGURA 84 es una serie de paneles. El panel superior es una tabla que proporciona la reactividad de variantes del brazo de HER2 con HER2, medida mediante diversos ensayos de unión, además de la reactividad de los clones de HER2 con el anticuerpo para hu4D5 trastuzumab. El panel inferior es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración (μM) de Fab biespecífico para HER2 para los clones dados (hu4D5, 3H4 y 2H11). Se proporcionan valores de CE50 para cada clon en μM .

La FIGURA 85 es una tabla que proporciona información de afinidad y reactividad para las variantes del brazo de CD3 de HER2-TDB (38E4v1, 38E4, SP34, 40G5c y 2C11).

La FIGURA 86 es una gráfica que muestra la eliminación de células diana CT26 que expresan HER2 en función de la concentración (ng/ml) de variantes de HER2-TDB (hu4D5-2C11, hu4D5-SP34, 7C2-2C11 y 2C4-2C11). Células efectoras: linfocitos T procedentes de CD3-TG

La FIGURA 87A es una gráfica que muestra el volumen tumoral (mm^3) medido con el paso del tiempo (0-5 días) en animales tratados con vehículo o HER2-TDB (0,5 mg/kg).

La FIGURA 87B es una serie de gráficas. La gráfica superior izquierda muestra el porcentaje de células CD45+ periféricas por cada 5 células detectadas en el día 6 después del tratamiento con vehículo o con HER2-TDB (0,5 mg/kg). La gráfica superior derecha muestra el porcentaje de células CD45+ periféricas que son células CD8+ detectadas en el día 6 después del tratamiento con vehículo o con HER2-TDB (0,5 mg/kg). La gráfica inferior izquierda muestra el porcentaje de células CD45+ periféricas que son CD4+ detectadas en el día 6 después del tratamiento con vehículo o con HER2-TDB (0,5 mg/kg). La gráfica inferior derecha muestra el porcentaje de células CD8+ periféricas que son IFN+ detectadas en el día 6 después del tratamiento con vehículo o con HER2-TDB (0,5 mg/kg).

La FIGURA 88A es una serie de gráficas. La gráfica superior muestra una gráfica en cascada del porcentaje de cambio en el volumen tumoral en animales tratados con vehículo o con variante de HER2-TDB (hu4D5-SP34 o hu4D5-2C11; 0,5 mg/kg; IV, semanalmente, 5 semanas). La gráfica inferior muestra una gráfica en cascada del porcentaje de cambio en el volumen tumoral en animales tratados con variante de HER2-TDB (2C4-38E4; 0,5 mg/kg; IV, semanalmente, 5 semanas).

La FIGURA 88B es una serie de gráficas. La gráfica superior muestra el volumen tumoral como porcentaje del volumen basal en función del tiempo (días) para los animales tratados con vehículo o HER2-TDB (hu4D5-SP34). La gráfica inferior muestra el volumen tumoral como porcentaje del volumen basal en función del tiempo (días) para los animales tratados con vehículo o HER2-TDB (hu4D5-2C11). (HER2-TDB: 0,5 mg/kg; IV, semanalmente, 5 semanas).

La FIGURA 89 es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD107a+ en función de la concentración de TDB para HER2 (hu4D5-TDB, hu4D5.91A-TDB, and hu4D5.Y100A-TDB), evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron células SKBR3; las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 90A es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5 y SP34/hu4D5).

La FIGURA 90B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (SP34/hu4D5, 38E4c/hu4D5 y 40G5c/hu4D5).

La FIGURA 90C es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (SP34/hu4D5, 38E4c/hu4D5 y 40G5c/hu4D5).

La FIGURA 91A es una gráfica que muestra la curva de unión para cada uno de los tres HER2-TDB (SP34/hu4D5, 38E4c/hu4D5 y 40G5c/hu4D5) ensayados respecto de su unión *in vitro* a linfocitos T CD8+ que expresan CD3, evaluada mediante análisis FACS. FIGURE 91B es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+ en función de la concentración de HER2-TDB (SP34/hu4D5, 38E4c/hu4D5 y 40G5c/hu4D5).

La FIGURA 92A es una gráfica que muestra la curva de unión para los dos TDB para HER2 (38E4c/hu4D5 y 38E4/hu4D5) ensayados respecto de su unión *in vitro* a linfocitos T CD8+ que expresan CD3, evaluada mediante análisis FACS.

La FIGURA 92B es una gráfica que muestra la curva de unión para los dos TDB para HER2 (38E4c/hu4D5 y 38E4/hu4D5) ensayados respecto de su unión *in vitro* a células SKBR3 que expresan Her2, evaluada mediante análisis FACS.

La FIGURA 92C es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (38E4c/hu4D5 y 38E4/hu4D5) evaluada mediante análisis FACS. Las células efectoras fueron linfocitos T CD8+ humanos; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 92D es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+ en función de la concentración de HER2-TDB (38E4c/hu4D5 y 38E4/hu4D5).

La FIGURA 93A es una gráfica que muestra el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+GranzimaB+ en función de

la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron células SKBR3; las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 93B es una serie de gráficas que muestran la exocitosis de gránulos de células diana mediada por linfocitos T y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) detectada mediante ELISA para perforina y granzima A y B y el porcentaje de eliminación de células diana evaluado mediante liberación de LDH. Las células diana fueron células SKBR3; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 30:1.

La FIGURA 93C es una serie de gráficas que muestran la apoptosis de células diana mediada por linfocitos T y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) medida por las actividades de caspasa-3 y caspasa-7 en un ensayo CASPASE-GLO® 3/7, la apoptosis en un ensayo ELISA^{plus} de detección de muerte celular y la liberación de LDH. Las células diana fueron células SKBR3; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 10:1.

La FIGURA 93D es la imagen de una transferencia de Western (parte superior) que muestra la expresión de Her2 en células 3T3 transfectadas y una gráfica (parte inferior) que muestra el porcentaje de eliminación de células diana por linfocitos T activados en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), medida mediante la liberación de LDH. Las células diana fueron 3T3-Vector y 3T3-HER2; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 10:1.

La FIGURA 93E es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana BT474 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) en presencia de Fab de trastuzumab (T-Fab) o de dominio extracelular (ECD) soluble de HER2 evaluado mediante la liberación de LDH. Las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana = 5:1.

La FIGURA 93F es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) después de la reducción de células CD3+ de la población de células efectoras PBMC. Relación de células efectoras:células diana = 20:1.

La FIGURA 94A es una serie de gráficas que muestran el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+ (izquierda) y linfocitos T CD8+CD107a+ (en medio) en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), evaluado mediante análisis FACS y el porcentaje de eliminación de células diana SKBR3 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) (derecha). Las células diana fueron células SKBR3; las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 94B es una serie de gráficas que muestran el porcentaje de eliminación de células diana BT474 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) (izquierda) y el porcentaje de linfocitos T CD8+CD69+GranzimaB+ en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) (derecha), evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron células BT474; las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana como se indica.

La FIGURA 95A es una serie de histogramas que muestran la expresión de CFSE en linfocitos T CD8+ en presencia de células diana SKBR3 y/o TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5).

La FIGURA 95B es una gráfica que muestra el factor de cambio en el número de células CD8+ en función del tiempo después de la incubación con células diana SKBR3 y TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), evaluado mediante análisis FACS.

La FIGURA 95C es una serie de gráficas que muestra el factor de cambio en el número de células CD8+ en función del tiempo después de la incubación con células diana SKBR3, TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) y 20 ng/ml de IL-2, evaluado mediante análisis FACS.

La FIGURA 96A es una imagen de una transferencia de Western que muestra el nivel de expresión de Her2 en un panel de líneas celulares tumorales humanas.

La FIGURA 96B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) evaluado mediante la liberación de LDH. Las células diana fueron BJAB, MDA435, MDA231, MCF7, MDA453, SKBR3 y BT474; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 25:1.

La FIGURA 96C es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron MCF7 y SKBR3; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 20:1.

La FIGURA 96D es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron BJAB y SKBR3; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 20:1.

La FIGURA 96E es una tabla que muestra el número de copias de HER2 para un panel de células diana y para cada uno, la CE50 de TDB para HER2 y el porcentaje de ocupación de HER2 a esa concentración. Las células diana son MDA435, MDA231, MCF7, MDA453, BT474 y SKBR3.

La FIGURA 97A es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) evaluado mediante la liberación de LDH. Las células diana fueron SKBR3, HCC1569, KPL4, HCC202, JIMT1 y CALU3; las células efectoras fueron PBMC; relación de células efectoras:células diana = 10:1.

La FIGURA 97B es una gráfica que muestra el porcentaje de células diana viables en función de la concentración de trastuzumab emtansina (T-DM1) evaluado mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CELLTITERGLO®. Las células diana fueron BT474-M1 y BT474-M1 resistentes a T-DM1; las células efectoras fueron linfocitos T CD8+; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 97C es una gráfica que muestra el porcentaje de células diana viables en función de la concentración

de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron BT474-M1 y BT474-M1 resistentes a T-DM1; las células efectoras fueron linfocitos T CD8⁺; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 98 es una gráfica y una tabla que muestran la farmacocinética (PK) de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) en ratas Sprague-Dawley evaluada mediante ELISA.

La FIGURA 99A es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); el grupo 2 (PBM(1) + vehículo a 0,5 mg/kg); el grupo 3 (PBM(1) + TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) a 0,5 mg/kg); el grupo 4 (PBM(2) + vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 5 (PBM(2) + TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) a 0,5 mg/kg). La FIGURA 99B es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el volumen tumoral con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/2C11) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 99C es un histograma que muestra el porcentaje relativo de cambio en el volumen tumoral con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/2C11) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 99D es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/2C11) a 0,5 mg/kg). Los tumores con respuesta al tratamiento incluyeron tumores que tenían más de 1000 mm³ al inicio del tratamiento.

La FIGURA 99E es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el volumen tumoral con el paso del tiempo para el grupo 1 (TDB para HER2 con brazo de control para CD3 (hu4D5/SP34) a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB de control (2C11) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 99F es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/SP34) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 99G es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/2C11) a 0,5 mg/kg); el grupo 3 (TDB de control (2C11) a 0,5 mg/kg); y el grupo 4 (T-DM1 a 15 mg/kg).

La FIGURA 100A es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (sin tratar); el grupo 2 (TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 100B es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); el grupo 2 (PBM(3) + vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 3 (PBM(3) + TDB de control (2C11) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 101A es una gráfica que muestra la afinidad de unión para el anticuerpo CD3-UCHT1 evaluado respecto de su unión *in vitro* a CD3 humano en linfocitos T humanos, linfocitos T TG para CD3 y linfocitos T de BALB/c, evaluado mediante análisis FACS.

La FIGURA 101B es una gráfica que muestra la afinidad de unión para el anticuerpo CD3-2C11 evaluado respecto de su unión *in vitro* a CD3 de ratón en linfocitos T TG para CD3 y linfocitos T de BALB/c, evaluado mediante análisis FACS.

La FIGURA 102A es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana CT26-HER2 en función de la concentración de TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5), evaluado mediante análisis FACS. Las células efectoras fueron linfocitos T aislados de sangre periférica humana, linfocitos T esplénicos transgénicos para huCD3 y linfocitos T esplénicos de BALB/c.

La FIGURA 102B es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana CT26-HER2 en función de la concentración de TDB para HER2 (hu4D5/2C11), evaluado mediante análisis FACS. Las células efectoras fueron linfocitos T aislados de sangre periférica humana, linfocitos T esplénicos transgénicos para huCD3 y linfocitos T esplénicos de BALB/c.

La FIGURA 103 es una gráfica que muestra el volumen tumoral relativo con el paso del tiempo para el grupo 1 (vehículo a 0,5 mg/kg); y el grupo 2 (TDB para HER2 (hu4D5/SP34) a 0,5 mg/kg).

La FIGURA 104 es una gráfica que muestra las curvas de unión para cada uno de los tres TDB para LYPD1 ensayados respecto de su unión *in vitro* a linfocitos T CD8⁺ que expresan CD3.

La FIGURA 105 es una gráfica que muestra el porcentaje de eliminación de células diana OVCAR3.Luc en función de la concentración de TDB para LYPD1.

La FIGURA 106 es un conjunto de gráficas que muestran el porcentaje de linfocitos T CD8⁺CD69⁺ (izquierda) y CD8⁺CD25⁺ (derecha) en función de la concentración de TDB para LYPD1, evaluado mediante análisis FACS. Las células diana fueron células OVCAR3.Luc; relación de células efectoras:células diana = 3:1.

La FIGURA 107 muestra las secuencias de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera (parte superior) y el dominio variable de cadena pesada (parte inferior) del anticuerpo anti-RET 41205.v6.

La FIGURA 108A es una gráfica que muestra el volumen tumoral (mm³) en función del tiempo (días) para el grupo 1 (vehículo, qwx3, IV; n=9); el grupo 2 (TDB para CD20 (2H7-mu2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV; n=9); el grupo 3 (anti-PD1 (mu8F11 DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP; n=9); y el grupo 4 (anti-PD1 (mu8F11 DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP + TDB para CD20 (2H7-mu2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV; n=9).

La FIGURA 108B es una gráfica que muestra el volumen tumoral (mm³) en función del tiempo (días) para el grupo 1 (vehículo, qwx3, IV; n=9); el grupo 2 (TDB para CD20 (2H7-mu2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV; n=9); el grupo 3 (anti-PD1 (mu8F11 DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP; n=9); y el grupo 4 (anti-PD1 (mu8F11 DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP + CD20 TDB (2H7-mu2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV; n=9). La línea continua más oscura representa el volumen tumoral ajustado para el grupo especificado.

Descripción detallada de las realizaciones de la invención

I. DEFINICIONES

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere al intervalo de error habitual para el valor correspondiente, fácilmente conocido por los expertos en este campo técnico. La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) realizaciones que se refieren a ese valor o parámetro en sí.

Un "marco aceptor humano", a efectos del presente documento, es un marco que comprende la secuencia de aminoácidos de un marco de dominio variable de cadena ligera (VL) o un marco de dominio variable de cadena pesada (VH) derivado de un marco de inmunoglobulina humana o un marco consenso humano, como se define más adelante. Un marco aceptor humano "derivado de" un marco de inmunoglobulina humana o de un marco consenso humano pueden comprender la misma secuencia de aminoácidos del mismo o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, el número de cambios de aminoácidos es 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos o 2 o menos. En algunas realizaciones, el marco humano aceptor de VL es idéntico en secuencia a la secuencia del marco de VL de inmunoglobulina humana o a la secuencia de marco consenso humana.

"Afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un solo sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su compañero de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique de otro modo, como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su compañero Y puede estar representada en general por la constante de disociación (K_d). La afinidad puede medirse mediante métodos comunes conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento. A continuación se describen realizaciones específicas ilustrativas y a modo de ejemplo para medir la afinidad de unión.

Un anticuerpo "madurado por afinidad" se refiere a un anticuerpo con una o más alteraciones en una o más de las regiones hipervariables (HVR), en comparación con un anticuerpo precursor que no posee dichas alteraciones, dando como resultado dichas alteraciones una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno.

Las expresiones "anticuerpo anti-CD3" y "anticuerpo que se une a CD3" se refieren a un anticuerpo que es capaz de unirse a CD3 con suficiente afinidad, de tal forma que el anticuerpo es útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para dirigirse a CD3. En una realización, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-CD3 a una proteína no relacionada, distinta de CD3 es menor de aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a CD3 medida, por ejemplo, mediante radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD3 se une a un epítipo de CD3 que está conservado entre CD3 de diferentes especies.

El término "anticuerpo" se usa en el presente documento en el sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpo, en tanto que muestren la actividad de unión a antígeno deseada.

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero sin limitación, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de cadena sencilla (por ejemplo, scFv); y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

Por "dominio de unión" se entiende una parte de un compuesto o una molécula que se une específicamente a un epítipo, antígeno, ligando o receptor diana. Los dominios de unión incluyen, pero sin limitación, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales, policlonales, recombinantes, humanizados y quiméricos), fragmentos de anticuerpo o porciones de los mismos (por ejemplo, fragmentos Fab, Fab'₂, anticuerpos scFv, SMIP, anticuerpos de dominio, diacuerpos, minicuerpos, scFv-Fc, aficuerpos, nanocuerpos y dominios VH y/o VL de anticuerpos), receptores, ligandos, aptámeros y otras moléculas que tienen un compañero de unión identificado.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclosfosfamida (CITOXAN®); alquilsulfonatos, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carbocina, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas, incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluyendo el análogo sintético de topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escoplectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (en particular, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clornafazina, clorofosfamida,

estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma11 y calicheamicina omegall (véase, por ejemplo, Nicolaou et al., Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); CDP323, un inhibidor oral de alfa-4 integrina; dinemicina, incluyendo dinemicina A; una esperamicina; así como cromóforo de neocarcinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina relacionados con cromoproteína), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicina, dactinomomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo ADRIAMYCIN®, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, inyección liposómica de doxorubicina HCl (DOXIL®), doxorubicina liposomal TLC D-99 (MYOCET®), doxorubicina liposomal pegilada (CAELYX®) y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato, gemcitabina (GEMZAR®), tegafur (UFTORAL®), capecitabina (XELODA®), una epotilona y 5-fluorouracilo (5-FU); combretastatina; análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostano, testolactona; agentes antipararrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato de eliptino; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguanina; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; 2-etilhidracida; procarbazona; complejo polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofurano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2'-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoide, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), formulación diseñada en nanopartículas de albúmina de paclitaxel (ABRAXANE™) y docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; agentes de platino, tales como cisplatino, oxaliplatino (por ejemplo, ELOXATIN®) y carboplatino; vincas, que evitan que la polimerización de tubulina forme microtúbulos, incluyendo vinblastina (VELBAN®), vincristina (ONCOVIN®), vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®) y vinorelbina (NAVELBINE®); etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; leucovorina; novantrona; edatraxato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico, incluyendo bexaroteno (TARGRETIN®); bisfosfonatos, tales como clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), etidronato (DIDROCAL®), NE-58095, ácido zoledrónico/zoledronato (ZOMETA®), alendronato (FOSAMAX®), pamidronato (AREDIA®), tiludronato (SKELID®) o risedronato (ACTONEL®); troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina; oligonucleótidos antisentido, particularmente, los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras y receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF-R) (por ejemplo, erlotinib (Tarceva™)); y VEGF-A que reducen la proliferación celular; vacunas, tales como la vacuna THERATOPE® y vacunas de terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®; inhibidor de topoisomerasa 1 (por ejemplo, LURTOTECAN®); rmRH (por ejemplo, ABARELIX®); BAY439006 (sorafenib; Bayer); SU-11248 (sunitinib, SUTENT®, Pfizer); perifosina, inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib o etoricoxib), inhibidor del proteasoma (por ejemplo, PS341); bortezomib (VELCADE®); CCI-779; tipifarnib (R11577); orafenib, ABT510; inhibidor de Bcl-2, tal como oblimersen sódico (GENASENSE®); pixantrona; inhibidores de EGFR; inhibidores de tirosina cinasa; inhibidores de serina-treonina cinasa, tales como rapamicina (sirolimus, RAPAMUNE®); inhibidores de farnesil transferasa, tales como lonafarnib (SCH 6636, SARASAR™); y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura de una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona; y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovorina y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores.

Los agentes quimioterapéuticos como se definen en el presente documento incluyen "agentes antihormonales" o "agentes terapéuticos endocrinos" que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer. Pueden ser, en sí, hormonas, incluyendo, pero sin limitación: antiestrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y FARESTON. cndot.toremifeno; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol MEGASE®, exemestano AROMASIN®, formestano, fadrozol, vorozol RIVISOR®, letrozol FEMARA® y anastrozol ARIMIDEX®; y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina; oligonucleótidos antisentido, en particular, los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas

en la proliferación celular anómala, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; ribozimas, tales como un inhibidor de la expresión de VEGF (por ejemplo, ribozima ANGIOZYME®) y un inhibidor de la expresión de HER2; vacunas tales como vacunas para terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; inhibidor de la topoisomerasa 1 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; Vinorelbina y Esperamicinas (véase la Patente de los Estados Unidos n.º 4.675.187) y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores.

La expresión anticuerpo "quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que una porción de la cadena pesada y/o ligera procede de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera procede de una fuente o especie diferente.

La expresión "grupo de diferenciación 3" o "CD3", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier CD3 nativo de cualquier fuente de vertebrado, incluyendo mamíferos, tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), salvo que se indique de otro modo, incluyendo, por ejemplo, cadenas CD3ε, CD3γ, CD3α y CD3β. El término abarca CD3 no procesado de "longitud completa" (por ejemplo, CD3ε o CD3γ no procesado o no modificado), así como cualquier forma de CD3 que sea el resultado de su procesamiento en la célula. El término también abarca variantes de origen natural de CD3, incluyendo, por ejemplo, variantes de corte y empalme o variantes alélicas. CD3 incluye, por ejemplo, la proteína CD3ε humana (n.º de RefSeq del NCBI NP_000724), que tiene 207 aminoácidos de longitud y proteína CD3γ humana (n.º de RefSeq del NCBI NP_000064), que tiene 182 aminoácidos de longitud.

La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante poseída por su cadena pesada. Hay cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM y varias de estas pueden además dividirse en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α, δ, ε, γ y μ, respectivamente.

Se entiende que los aspectos y realizaciones de la invención descritos en el presente documento incluyen aquellos que "comprenden", "consisten", y "consisten esencialmente en" aspectos y realizaciones.

La expresión "agente citotóxico", como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia que inhibe o previene una función celular y/o provoca la muerte o destrucción celular. Los agentes citotóxicos incluyen, pero sin limitación, isótopos radiactivos (por ejemplo, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² e isótopos radiactivos de Lu); agentes o fármacos quimioterapéuticos (por ejemplo, metotrexato, adriamicina, alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, etopósido), doxorubicina, melfalán, mitomicina C, clorambucilo, daunorrubicina u otros agentes intercalantes); agentes inhibidores del crecimiento; enzimas y fragmentos de las mismas, tales como enzimas nucleolíticas; antibióticos; toxinas, tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluyendo fragmentos y/o variantes de los mismos; y los diversos agentes antitumorales o anticancerosos divulgados más adelante.

Un "trastorno" es cualquier afección que se beneficiaría del tratamiento, incluyendo, pero sin limitación, trastornos o enfermedades agudos y crónicos, incluyendo aquellas patologías que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión.

Las expresiones "trastorno proliferativo celular" y "trastorno proliferativo" se refieren a trastornos que se asocian con algún grado de proliferación celular anormal. En una realización, el trastorno proliferativo celular es cáncer. En una realización, el trastorno proliferativo celular es un tumor.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o tumores linfoides malignos. Los ejemplos más particulares de dichos cánceres incluyen, pero sin limitación, cáncer escamocelular (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón, incluyendo cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón y carcinoma epidermoide de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago, incluyendo cáncer gastrointestinal y cáncer estromal gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer del tracto urinario, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma del pene, melanoma, melanoma de diseminación superficial, léntigo, melanoma maligno, melanomas lentigosos acrales, melanomas nodulares, mieloma múltiple y linfoma de células β (incluyendo linfoma no Hodgkin de grado bajo/folicular (NHL); NHL linfocítico de células pequeñas (SL); NHL de grado intermedio/folicular; NHL difuso de grado intermedio; NHL inmunoblástico de alto grado; NHL linfoblástico de alto grado; NHL de células no escindidas pequeñas de alto grado; NHL con neoplasia maligna; linfoma de células del manto; linfoma relacionado con SIDA; y macroglobulinemia de Waldenström); leucemia linfocítica crónica (CLL); leucemia linfoblástica aguda (ALL); tricoleucemia; leucemia mieloblástica crónica; y trastorno linfoproliferativo posterior a trasplante (PTLD), así como proliferación vascular anormal asociada con facomatosis, edema (tal como el asociado a tumores cerebrales), síndrome de Meigs, cáncer de cerebro, así como de cabeza y cuello y las metástasis asociadas.

En ciertas realizaciones, los cánceres que son susceptibles al tratamiento mediante los anticuerpos de la invención incluyen cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer de pulmón no microcítico, glioblastoma, linfoma no Hodgkin (NHL), cáncer de células renales, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, sarcoma de partes blandas, sarcoma de Kaposi, carcinoma carcinoide, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario, mesotelioma y mieloma múltiple. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre: cáncer microcítico de pulmón, glioblastoma, neuroblastomas, melanoma, carcinoma de mama, cáncer gástrico, cáncer colorrectal (CRC) y carcinoma hepatocelular. No obstante, en algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre: cáncer de pulmón no microcítico, cáncer colorrectal, glioblastoma y carcinoma de mama, incluyendo formas metastásicas de estos cánceres. En otras realizaciones, el cáncer se selecciona entre una clase de cánceres de linfocitos B maduros, excluyendo el linfoma no Hodgkin, pero incluyendo el DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL), linfoma de Burkitt (BL), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma esplénico de la zona marginal, tricoleucemia, linfoma/leucemia esplénica, no clasificable, linfoma de células β pequeñas de la pulpa roja difusa esplénica, variante de tricoleucemia, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedades de cadenas pesadas, enfermedad de cadena pesada α , enfermedad de cadena pesada γ , enfermedad de cadena pesada μ , mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma solitario del hueso, plasmacitoma extraóseo, linfoma de la zona marginal extranodal de tejido linfocítico asociado a mucosa (linfoma MALT), linfoma de la zona marginal nodal, linfoma de la zona marginal nodal pediátrico, linfoma folicular pediátrico, linfoma del centro folicular cutáneo primario, linfoma de linfocitos B grandes rico en linfocitos T/histiocitos, DLBCL primario del SNC, DLBCL cutáneo primario, tipo pierna, DLBCL positivo a EBV en ancianos, DLBCL asociado a inflamación crónica, granulomatosis linfomatoide, linfoma de células β grandes mediastinales (tímicas) primario, linfoma de linfocitos B grandes intravascular, linfoma de células β grandes positivas a ALK, linfoma plasmablastoide, linfoma de células β grandes que surge en enfermedad de Castleman multicéntrica asociada con HHV8, linfoma de fusión primario: linfoma de células β , no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de células β grandes y linfoma de Burkitt y linfoma de células β , no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de células β grandes y el linfoma de Hodgkin clásico.

"Tumor", como se usa en el presente documento, se refiere a todos los crecimientos y proliferaciones de células neoplásicas, ya sean malignas o benignas y a todas las células y tejidos precancerosos y cancerosos. Los términos "cáncer", "canceroso", "trastorno proliferativo celular", "trastorno proliferativo" y "tumor" no son mutuamente excluyentes, como se cita en el presente documento.

La expresión "antígeno tumoral", como se usa en el presente documento, puede entenderse como aquellos antígenos que se presentan en células tumorales. Estos antígenos pueden presentarse sobre la superficie celular con una parte extracelular, que normalmente se combina con una parte transmembrana y citoplasmática de la molécula. Estos antígenos en ocasiones pueden presentarse únicamente por células tumorales y nunca por las normales. Los antígenos tumorales pueden expresarse exclusivamente sobre células tumorales o puede representar una mutación específica de tumores, en comparación con células normales. En este caso, se denominan antígenos específicos de tumores. Los más comunes son los antígenos tumorales que se presentan por células tumorales y células normales y se denominan antígenos asociados a tumores. Estos antígenos asociados a tumores pueden sobreexpresarse en comparación con las células normales o son accesibles para la unión de anticuerpos en células tumorales debido a la estructura menos compacta del tejido tumoral, en comparación con el tejido normal. En un aspecto, el antígeno tumoral se selecciona entre aquellos expuestos en la tabla 1 más adelante.

Las "funciones efectoras" se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen: unión a C1q y citotoxicidad dependiente de complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC); fagocitosis; regulación negativa de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B); y activación de linfocitos B.

Una "cantidad eficaz" de un compuesto, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD3 de la invención o una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) del mismo, es al menos la cantidad mínima necesaria para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado, tal como una mejora o prevención medible de un trastorno particular (por ejemplo, un trastorno proliferativo celular, por ejemplo, cáncer). En el presente documento, una cantidad eficaz puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del paciente y de la capacidad del anticuerpo para desencadenar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento se ve superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como la eliminación o la reducción del riesgo, la disminución de la gravedad o el retraso del inicio de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o de comportamiento de la enfermedad, sus complicaciones y los fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como la disminución de uno o más síntomas resultantes de la enfermedad, aumentar la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad, reducir la dosis de otras medicaciones necesarias para tratar la enfermedad, potenciando el efecto de otra medicación tal como dirigiendo, retrasando la progresión de la enfermedad y/o prolongando la supervivencia. En el caso de un cáncer o tumor, una cantidad eficaz del fármaco puede

tener efecto a la hora de reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño tumoral; inhibir (es decir, frenar hasta cierto punto o deseablemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, frenar hasta cierto punto y deseablemente detener) la metástasis tumoral; inhibir hasta cierto punto el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados al trastorno. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. Para los fines de la presente invención, una cantidad eficaz de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para llevar a cabo el tratamiento profiláctico o terapéutico tanto directa como indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede conseguirse o no junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por tanto, una "cantidad eficaz" puede considerarse en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos y puede considerarse que se administra un solo agente en una cantidad eficaz si, junto con uno o más agentes diferentes, puede lograrse o se logra un resultado deseable.

La expresión "región Fc" en el presente documento se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. La expresión incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En una realización, una región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226 o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede estar o no presente. A menos que se especifique lo contrario en el presente documento, la numeración de los restos de aminoácidos en la región Fc o en la región constante es de acuerdo con el sistema de numeración de EU, también llamado índice de EU, tal como se describe en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

"Marco" o "FR" se refiere a restos de dominio variable distintos de restos de la región hipervariable (HVR). La región FR de un dominio variable consiste de cuatro dominios FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. Por consiguiente, las secuencias de HVR y FR aparecen generalmente en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

Las expresiones "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo natural o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en el presente documento.

Un "agente inhibidor del crecimiento", cuando se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto o composición que inhibe el crecimiento de una célula, ya sea *in vitro* o *in vivo*. En una realización, el agente inhibidor del crecimiento es un anticuerpo inhibidor del crecimiento que previene o reduce la proliferación de una célula que expresa un antígeno al que se une el anticuerpo. En otra realización, el agente inhibidor del crecimiento puede ser uno que reduzca significativamente el porcentaje de células en fase S. Los ejemplos de agentes inhibidores del crecimiento incluyen agentes que bloquean la progresión del ciclo celular (en un punto distinto de la fase S), tales como agentes que inducen la detención en G1 y la detención en la fase M. Los bloqueadores de la fase M clásicos incluyen los agentes de la vinca (vincristina y vinblastina), taxanos e inhibidores de topoisomerasa II, tales como doxorubicina, epirubicina, daunorubicina, etopósido y bleomicina. Aquellos agentes que detienen la fase G1 y también se pasan a la detención de la fase S, por ejemplo, agentes alquilantes de ADN, tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluorouracilo y ara-C. Puede encontrarse información adicional en Mendelsohn e Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Capítulo 1, titulado "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" por Murakami et al. (W.B. Saunders, Filadelfia, 1995), por ejemplo, pág. 13. Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son fármacos anticáncer ambos derivados del tejo. Docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer), procedente del tejo europeo, es un análogo semisintético del paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb). El paclitaxel y el docetaxel promueven el ensamblaje de microtúbulos a partir de dímeros de tubulina y estabilizan los microtúbulos impidiendo su despolimerización, lo que da como resultado la inhibición de la mitosis en las células.

La expresión cáncer "positivo a HER2" comprende células cancerosas que tienen niveles por encima de lo normal de HER2. Los ejemplos de cáncer positivo a HER2 incluyen cáncer de mama positivo a HER2 y cáncer gástrico positivo a HER2. Opcionalmente, el cáncer positivo a HER2 tiene una puntuación de inmunohistoquímica (IHC) de 2+ o 3+ y/o una relación de amplificación de hibridación *in situ* (ISH) $\geq 2,0$.

Las expresiones "célula hospedadora", "línea celular hospedadora" y "cultivo de células hospedadoras" se usan indistintamente y se refiere a células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la descendencia de dichas células. Las células hospedadoras incluyen "transformantes" y "células transformadas", que incluyen a la célula primaria transformada y a la descendencia procedente de esta, independientemente del número de pasajes. La descendencia puede no ser completamente idéntica en el contenido de ácido nucleico a una célula progenitora, pero puede contener mutaciones. Se incluye en el presente documento la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica detectada sistemáticamente o seleccionada en la célula transformada originalmente.

Un "anticuerpo humano" es uno que posee una secuencia de aminoácidos que se corresponde con la de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana o que procede de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpo humanos u otras secuencias codificantes de anticuerpo humanas. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprenda restos de unión a antígeno no humanos. Los

anticuerpos humanos se pueden producir también usando varias técnicas conocidas en la técnica, incluyendo bibliotecas de presentación en fagos. Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Para la preparación de anticuerpos monoclonales también se dispone de los métodos descritos en Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, pág. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991). Véase también van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Pueden prepararse anticuerpos humanos administrando el antígeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir dichos anticuerpos en respuesta a la exposición a antígenos, pero cuyos loci endógenos se han desactivado, por ejemplo, ratones xenomouse (véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.075.181 y 6.150.584 referentes a la tecnología XENOMOUSE™). Véase también, por ejemplo, Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) que se refiere a anticuerpos humanos generados mediante la tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos.

Un "marco consenso humano" es un marco que representa los restos de aminoácidos más comunes en una selección de secuencias marco de VL o VH de inmunoglobulina humana. En general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulina humanas es de un subgrupo de secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta edición, NIH Publicación 91-3242, Bethesda MD (1991), vol. 1-3. En una realización, para la VL, el subgrupo es el subgrupo kappa I como en Kabat et al., anteriormente citado. En una realización, para la VH, el subgrupo es el subgrupo III como en Kabat et al., anteriormente citado.

Un anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende restos de aminoácido de HVR no humanas y restos de aminoácidos de FR humanas. En ciertas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno y generalmente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las HVR (por ejemplo, CDR) corresponden a aquellas de un anticuerpo no humano y la totalidad o sustancialmente todas las FR corresponden a las de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado puede comprender opcionalmente al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una "forma humanizada" de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que se ha sometido a humanización.

La expresión "región hipervariable" o "HVR", como se usa en el presente documento, se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en cuanto a su secuencia ("regiones determinantes de la complementariedad" o "CDR") y/o de bucles estructuralmente definidos ("bucles hipervariables") y/o que contienen los restos de contacto con el antígeno ("contactos de antígeno"). En general, los anticuerpos comprenden seis HVR: tres en la VH (H1, H2, H3) y tres en la VL (L1, L2, L3). Las HVR a modo de ejemplo en el presente documento incluyen:

- (a) bucles hipervariables que aparecen en los restos de aminoácido 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));
- (b) CDR que aparecen en los restos de aminoácido 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));
- (c) contactos con el antígeno que tienen lugar en los restos de aminoácido 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) y 93-101 (H3) (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)); y
- (d) combinaciones de (a), (b) y/o (c), incluyendo los restos de aminoácido de HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) y 94-102 (H3).

A menos que se indique otra cosa, los restos de HVR y otros restos en el dominio variable (por ejemplo, restos de FR) se numeran en el presente documento de acuerdo con Kabat et al., anteriormente citado.

Un "inmunoconjugado" es un anticuerpo conjugado a una o más moléculas heterólogas, incluyendo, pero sin limitación, un agente citotóxico.

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

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha separado de un componente de su ambiente natural. En algunas realizaciones, un anticuerpo se purifica hasta una pureza mayor del 95 % o 99 % determinada mediante, por ejemplo, métodos electroforéticos (por ejemplo, SDS-PAGE, isoelectroenfoque (IEF), electroforesis capilar) o cromatográficos (por ejemplo, intercambio iónico o HPLC en fase reversa). Para una revisión de los métodos para la evaluación de la pureza de anticuerpos, véase, por ejemplo, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

Un ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su ambiente natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que normalmente contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente de manera

extracromosómica o en una ubicación cromosómica que es diferente de su ubicación cromosómica natural.

Un "ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD3" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo (o fragmentos de las mismas), incluyendo dichas moléculas de ácido nucleico en un solo vector o vectores separados y dichas moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones de una célula hospedadora.

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, salvo por posibles variantes de anticuerpos, por ejemplo, que contienen mutaciones de origen natural o que surgen durante la producción de una preparación de anticuerpo monoclonal, estando presentes dichas variantes generalmente en cantidades menores. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, que incluyen generalmente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales está dirigido contra un solo determinante en un antígeno. Por tanto, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo que se ha obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea y no debe interpretarse como que requiera la producción del anticuerpo por ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales para su uso de acuerdo con la presente invención pueden producirse mediante diversas técnicas, incluyendo pero, sin limitación, el método de hibridoma, métodos de ADN recombinante, métodos de presentación en fagos y métodos que utilizan animales transgénicos que contienen la totalidad o parte de los loci de inmunoglobulinas humanas, describiéndose dichos métodos y otros métodos a modo de ejemplo para producir anticuerpos monoclonales en el presente documento.

Un "anticuerpo desnudo" se refiere a un anticuerpo que no está conjugado a un resto heterólogo (por ejemplo, un resto citotóxico) o radiomarcador. El anticuerpo no marcado puede estar presente en una formulación farmacéutica.

Los "anticuerpos nativos" se refieren a moléculas de inmunoglobulina de origen natural con diversas estructuras. Por ejemplo, los anticuerpos IgG nativos son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 Dalton, compuestas por dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas que están unidas por enlaces disulfuro. Del extremo N al extremo C-terminal, cada cadena pesada tiene una región variable (VH), también denominada dominio pesado variable o dominio variable de cadena pesada, seguida de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3). De manera similar, del extremo N al extremo C-terminal, cada cadena ligera tiene una región variable (VL), también denominada dominio variable ligero o dominio variable de cadena ligera, seguida de un dominio variable constante (CL). La cadena ligera de un anticuerpo puede asignarse a uno de dos tipos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), basándose en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante.

El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, terapia combinada, las contraindicaciones y/o las advertencias en referencia al uso de dichos productos terapéuticos.

La expresión "antagonista de unión al eje de PD-1" se refiere a una molécula que inhibe la interacción de un compañero de unión del eje de PD-1 con uno o más de sus compañeros de unión, a fin de eliminar la disfunción de linfocitos T resultante de la señalización en el eje de señalización de PD-1, siendo un resultado la restauración o potenciación de la función de linfocitos T (por ejemplo, la proliferación, la producción de citocinas, la eliminación de células diana). Como se usa en el presente documento, un antagonista de unión al eje de PD-1 incluye un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2.

La expresión "antagonista de unión a PD-1" se refiere a una molécula que reduce, bloquea, inhibe, suprime o interfiere con la transducción de señales resultante de la interacción de PD-1 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-L1, PD-L2. En algunas realizaciones, el antagonista de unión a PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a uno o más de sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1 y/o PD-L2. Por ejemplo, los antagonistas de unión a PD-1 incluyen anticuerpos anti-PD-1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoconjugados, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que reducen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales resultante de la interacción de PD-1 con PD-L1 y/o PD-L2. En una realización, un antagonista de unión a PD-1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de la señalización mediada por proteínas de la superficie celular expresadas en linfocitos T a través de PD-1 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, el antagonista de unión a PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En un aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es MDX-1106 (nivolumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es MK-3475 (lambrolizumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es CT-011 (pidilizumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es AMP-224, descrito en el presente documento.

La expresión "antagonista de unión a PD-L1" se refiere a una molécula que reduce, bloquea, inhibe, suprime o interfiere con la transducción de señales resultantes de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión,

tal como PD-1, B7-1. En algunas realizaciones, un antagonista de unión a PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y/o B7-1. En algunas realizaciones, los antagonistas de unión a PD-L1 incluyen anticuerpos anti-PD-L1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que reducen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales resultante de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-1, B7-1. En una realización, un antagonista de unión a PD-L1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de la señalización mediada por proteínas de la superficie celular expresadas en linfocitos T a través de PD-L1 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, un antagonista de unión a PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En un aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es YW243.55.S70, descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105, descrito en el presente documento. En otro aspecto específico más, un anticuerpo anti-PD-L1 es MPDL3280A, descrito en el presente documento. En otro aspecto específico más, un anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736, descrito en el presente documento.

La expresión "antagonista de unión a PD-L2" se refiere a una molécula que reduce, bloquea, inhibe, suprime o interfiere con la transducción de señales resultantes de la interacción de PD-L2 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-1. En algunas realizaciones, un antagonista de unión a PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a uno o más de sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-L2 inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunas realizaciones, los antagonistas de PD-L2 incluyen anticuerpos anti-PD-L2, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que reducen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales resultante de la interacción de PD-L2 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-1. En una realización, un antagonista de unión a PD-L2 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de la señalización mediada por proteínas de la superficie celular expresadas en linfocitos T a través de PD-L2 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, un antagonista de unión a PD-L2 es una inmunoadhesina.

El término "proteína", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier proteína nativa procedente de cualquier fuente de vertebrado, incluyendo mamíferos, tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique otra cosa. El término abarca la proteína de "longitud completa" no procesada, así como cualquier forma de la proteína que sea el resultado de su procesamiento en la célula. El término también abarca variantes de origen natural de la proteína, por ejemplo, variantes de corte y empalme o variantes alélicas. Las proteínas de acuerdo con la invención incluyen, por ejemplo, cualquier proteína listada en la tabla 1.

El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" respecto de la secuencia de un polipéptido de referencia se define como el porcentaje de restos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los restos de aminoácidos en la secuencia de polipéptido de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, en caso necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin tomar en consideración cualquier sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. El alineamiento con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de varias maneras que se encuentran dentro de las capacidades de la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles de manera pública, tales como los programas BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros necesarios para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr una alineación máxima a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se estén comparando. A efectos del presente documento, sin embargo, los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos se generan usando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2 fue programado por Genentech, Inc. y el código fuente, junto con las documentación para usuarios, se han depositado en la Oficina de Derechos de Autor de los Estados Unidos (U.S. Copyright Office), Washington D.C., 20559, donde está registrada con el n.º de Registro de Derechos de Autor de los Estados Unidos TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible al público a través de Genentech, Inc., South San Francisco, California o puede compilarse a partir de su código fuente. El programa ALIGN-2 debe compilarse para su uso en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Todos los parámetros de comparación de secuencia se establecen por el programa ALIGN-2 y no varían.

En las situaciones donde se emplea ALIGN-2 para comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos A dada para, con o contra una secuencia de aminoácidos B dada (que puede, como alternativa, citarse como una secuencia de aminoácidos A que tiene o comprende un % determinado de identidad de secuencia de aminoácidos para, con o frente a una secuencia de aminoácidos B) se calcula del modo siguiente:

100 veces la fracción X/Y

donde X es el número de restos de aminoácidos puntuados como coincidencias idénticas por el programa de alineación de secuencias ALIGN-2 en la alineación del programa de A y B y donde Y es el número total de restos de aminoácidos en B. Se apreciará que cuando la longitud de la secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de la secuencia

de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de A respecto de B no será igual al % de identidad de secuencia de aminoácidos de B respecto de A. A menos que se afirme específicamente lo contrario, todos los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usados en el presente documento se obtienen como se describe en el párrafo inmediatamente precedente usando el programa informático ALIGN-2.

5 La expresión "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que se encuentra en una forma tal que permite que sea eficaz la actividad biológica de un principio activo contenido en la misma y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se administraría la formulación.

10 Un "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una formulación farmacéutica, distinto del principio activo, que no es tóxico para un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, un tampón, excipiente, estabilizante o conservante.

15 Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y las variaciones gramaticales del mismo, tales como "tratar" o "tratando") se refiere a la intervención clínica con el objetivo de alterar el transcurso natural del individuo que se esté tratando y puede efectuarse tanto para profilaxis como durante el transcurso de la patología. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero sin limitación, prevenir la aparición o recidiva de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualesquiera consecuencias patológicas directas o indirectas de la enfermedad, prevenir la metástasis, disminuir la velocidad de progresión de la enfermedad, mejora o paliación de la patología y remisión o pronóstico mejorado. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la invención se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para frenar la progresión de una enfermedad.

20 Como se usa en el presente documento, "retrasar la progresión" de un trastorno o enfermedad significa diferir, impedir, ralentizar, retardar, estabilizar y/o postponer el desarrollo de la enfermedad o el trastorno (por ejemplo, un trastorno proliferativo celular, por ejemplo, cáncer). Este retraso puede ser de diferentes períodos de tiempo, dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del individuo que se trate. Como es evidente para un experto en la materia, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, incluir la prevención, en el sentido de que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, un cáncer en estadio avanzado, tal como el desarrollo de metástasis, puede retrasarse.

30 Por "reducir" o "inhibir" se entiende la capacidad de provocar una reducción general, por ejemplo, del 20 % o más, del 50 % o más o del 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o más. En ciertas realizaciones, reducir o inhibir pueden referirse a la función efectora de un anticuerpo que está mediada por la región Fc del anticuerpo, incluyendo dichas funciones efectoras específicamente la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) y la fagocitosis celular dependiente de anticuerpo (ADCP).

35 La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicada en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo tienen generalmente estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones marco conservadas (FR) y tres regiones hipervariables (HVR). (Véase, por ejemplo, Kindt et al. Kuby Immunology, 6.ª ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007)). Un solo dominio VH o VL puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno. Además, pueden aislarse anticuerpos que se unen a un antígeno particular usando un dominio VH o VL de un anticuerpo que se une al antígeno para efectuar una detección sistemática de una biblioteca de dominios VL o VH complementarios, respectivamente. Véase, por ejemplo, Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

45 El término "vector", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al que está unida. El término incluye el vector en forma de una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula hospedadora en la que se ha introducido. Determinados vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los que están enlazados operativamente. Dichos vectores se citan en el presente documento como "vectores de expresión".

50 Como se usa en el presente documento, "administrar" se entiende como un método para administrar una dosis de un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD3 de la invención o un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-CD3 de la invención) o una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica, por ejemplo, una composición farmacéutica que incluye un anticuerpo anti-CD3 de la invención) a un sujeto. Las composiciones utilizadas en los métodos descritos en el presente documento pueden administrarse, por ejemplo, por vía intramuscular, por vía intravenosa, por vía intradérmica, por vía percutánea, por vía intraarterial, por vía intraperitoneal, por vía intralesional, por vía intracraneal, por vía intraarticular, por vía intraprostática, por vía intrapleural, por vía intratraqueal, por vía intranasal, por vía intravítrea, por vía intravaginal, por vía intrarrectal, por vía tópica, por vía intratumoral, por vía peritoneal, por vía subcutánea, por vía subconjuntiva, por vía intravesicular, por vía mucosa, por vía intrapericárdica, por vía intraumbilical, por vía intraocular, por vía oral, por vía tópica, por vía local, mediante inhalación, mediante inyección, mediante infusión, mediante infusión continua, mediante perfusión localizada bañando directamente las células diana, mediante catéter, mediante lavado, en cremas o en composiciones lipídicas. El método de administración puede variar dependiendo de varios factores (por ejemplo, el compuesto o la composición que se esté administrando y la gravedad de la afección, enfermedad o trastorno que se esté tratando).

II. COMPOSICIONES Y MÉTODOS

En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo anti-CD3 que comprende un primer dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185 y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267.

Los anticuerpos de la invención son útiles, por ejemplo, para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer) o un trastorno autoinmunitario o para potenciar la función inmunitaria en un sujeto que tenga dicho trastorno.

A. Anticuerpos anti-CD3 a modo de ejemplo

En un aspecto, la divulgación proporciona anticuerpos aislados que se unen a CD3 (por ejemplo, CD3 ϵ y/o CD3 γ).

Por ejemplo, en un aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo anti-CD3 que tiene un dominio de unión que tiene al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis regiones hipervariables (HVR) seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 comprende al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las regiones marco de cadena pesada FR-H1, FR-H2, FR-H3 y FR-H4 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 301-304, respectivamente y/o al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las regiones marco de cadena ligera FR-L1, FR-L2, FR-L3 y FR-L4 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 305-308, respectivamente. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 puede tener un dominio variable de cadena pesada (VH) que incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de o la secuencia de, SEQ ID NO: 184 y/o un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de o la secuencia de, SEQ ID NO: 185. En otros casos, el anticuerpo anti-CD3 comprende al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las regiones marco de cadena pesada FR-H1, FR-H2, FR-H3 y FR-H4 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 293-296, respectivamente y/o al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las regiones marco de cadena ligera FR-L1, FR-L2, FR-L3 y FR-L4 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 297-300, respectivamente. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 puede tener un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de o la secuencia de, SEQ ID NO: 186 y/o un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de o la secuencia de, SEQ ID NO: 187. En un caso particular, el anticuerpo anti-CD3 puede ser 40G5c o un derivado o pariente clonal del mismo.

En otro aspecto, un anticuerpo de la divulgación comprende (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias HVR de VH seleccionadas entre (i) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, (ii) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y (iii) HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 3; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias HVR de VL seleccionadas entre (i) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, (ii) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 puede tener un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 puede tener un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 186 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 187. En un caso particular, el anticuerpo anti-CD3 puede ser 40G5c o un derivado o pariente clonal del mismo.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, un anticuerpo anti-CD3 está humanizado. En una realización, un anticuerpo anti-CD3 comprende las HVR como en cualquiera de las realizaciones anteriores y además comprende un marco humano aceptor, por ejemplo, un marco de inmunoglobulina humano o un marco consenso humano.

En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD3, en donde el anticuerpo comprende una VH como en cualquiera de las realizaciones proporcionadas anteriormente y una VL como en cualquiera de las realizaciones proporcionadas anteriormente, en donde una o ambas de las secuencias de dominio variable incluyen modificaciones postraduccionales.

En un aspecto adicional, la divulgación proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD3 proporcionado en el presente documento. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD3 que comprende una secuencia VH de SEQ ID NO: 184 y una secuencia VL de SEQ ID NO: 185. En ciertas realizaciones de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo dentro de un fragmento de CD3 (por ejemplo, CD3ε humano) que consiste en los aminoácidos 1-26 (SEQ ID NO: 283) o 1-27 (SEQ ID NO: 278) de CD3ε humano.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo único de CD3. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 de la divulgación efectúa contactos únicos con los aminoácidos de CD3ε humano a una distancia de 3,5 Angstrom, 3,25 Angstrom, 3,00 Angstrom, 2,75 Angstrom o menos. En ciertas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo que consiste en uno, dos, tres, cuatro o cinco aminoácidos de CD3ε humano a una distancia de 3,5 Angstrom, 3,25 Angstrom, 3,00 Angstrom, 2,75 Angstrom o menos. En una realización de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 de la divulgación efectúa contactos únicos con los aminoácidos de CD3ε humano a una distancia de 3,5 Angstrom o menos. En ciertas realizaciones de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo que consiste en uno, dos, tres, cuatro o cinco aminoácidos de CD3ε humano a una distancia de 3,5 Angstrom o menos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo que consiste en aminoácidos de CD3ε humano seleccionados entre Gln1, Asp2, Asn4, Glu6 y Met7. En una realización particular de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 se une a un epítipo que incluye específicamente Glu6. En otras realizaciones concretas de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que no se une a un epítipo que incluye el aminoácido Glu5 de CD3ε humano. En otras realizaciones concretas de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que no se une a un epítipo que incluye los aminoácidos Gly3 y Glu5 de CD3ε humano.

Puede determinarse un epítipo de anti-CD3 mediante la unión del anticuerpo anti-CD3 a fragmentos peptídicos del epítipo. Como alternativa, puede determinarse un epítipo de anti-CD3 mediante mutagénesis de barrido de alanina. En una realización de la divulgación, una reducción en la unión de un anticuerpo anti-CD3 a CD3 mutado en un 20 %, 30 %, 50 %, 80 % o más indica que el resto de aminoácido de CD3 mutado en un ensayo de mutagénesis de barrido de alanina es un resto de epítipo para dicho anticuerpo anti-CD3. Como alternativa, puede determinarse un epítipo de anti-CD3 mediante espectrometría de masas. En algunas realizaciones de la divulgación, el epítipo se determina mediante cristalografía (por ejemplo, los métodos de cristalografía descritos en los ejemplos).

En algunas realizaciones de la divulgación, el epítipo determinado mediante cristalografía se determina usando los aminoácidos Q1-M7 de CD3. En algunas realizaciones, el epítipo determinado mediante cristalografía se determina usando los aminoácidos QDGNEEMGGITQTPYK (SEQ ID NO: 284) de CD3.

En algunas realizaciones de la divulgación, el epítipo determinado mediante cristalografía puede efectuarse combinando el Fab de anticuerpo anti-CD3, disuelto en NaCl 0,15 M, Tris 25 mM, pH 7,5 a 10 mg/ml, con un exceso molar de 2 veces (1 mg) de péptido CD3ε y detectando sistemáticamente una matriz dispersa de precipitantes en un formato de difusión de vapor de gota sedente. Los cristales optimizados pueden crearse a partir de una mezcla 1:1 con una solución de depósito que contiene un 70 % v/v de metil-pentanodiol y tampón HEPES 0,1 M a pH 7,5. El depósito puede usarse como crioprotector. Los cristales pueden transferirse a temperatura criogénica mediante inmersión rápida en nitrógeno líquido.

Los datos de difracción para los cristales pueden recogerse en un dispositivo de línea de haz de fuente de fotones avanzada 22ID, usando un detector CCD MAR300. Las difracciones registradas pueden integrarse y escalarse usando el programa HKL2000.

La estructura puede organizarse mediante un método de reemplazo molecular (MR) usando el programa Phaser. Por ejemplo, el modelo de búsqueda de MR es una subunidad de Fab procedente de una estructura cristalina del complejo de HGFA/Fab (código de PDB: 2R0L). El péptido de CD3ε se incorpora en la estructura basándose en un mapa de Fo-Fc. Posteriormente, puede refinarse la estructura con los programas REFMAC5 y PHENIX usando las funciones diana de máxima probabilidad, el método de refinado de factor B individual anisotrópico y el método de refinado de TLS, para lograr la convergencia.

En otros aspectos concretos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que incluye un parátipo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD3 proporcionado en el presente documento. Por ejemplo, en ciertos aspectos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que comprende aminoácidos que forman contactos a una distancia de 3,5 Angstrom o menos. En determinados aspectos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que consiste en los aminoácidos de la región VH de un anticuerpo anti-CD3 seleccionados entre el grupo que consiste en 33Tyr, 35His, 50Trp, 97Tyr y 98Ser. En determinados aspectos, de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que consiste en uno, dos, tres, cuatro o cinco aminoácidos de la región VH de un anticuerpo anti-CD3 seleccionados entre el grupo que consiste en 33Tyr, 35His, 50Trp, 97Tyr y 98Ser. En determinados aspectos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que consiste en los aminoácidos de la región VL de un

anticuerpo anti-CD3 seleccionados entre el grupo que consiste en 27Arg, 27Asn, 30Lys, 32Tyr, 92Phe, 94Leu y 96Arg. En determinados aspectos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que consiste en uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete aminoácidos de la región VL de un anticuerpo anti-CD3 seleccionados entre el grupo que consiste en 27Arg, 27Asn, 30Lys, 32Tyr, 92Phe, 94Leu y 96Arg. En un aspecto opcional de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que no se une al mismo epítipo que un parátipo de anticuerpo anti-CD3 que consiste en los aminoácidos de la región VL que comprenden 91Ser. En un aspecto adicional de la divulgación, un anticuerpo anti-CD3 de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores es un anticuerpo monoclonal, que comprende un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En una realización de la divulgación, un anticuerpo anti-CD3 es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂. En otra realización, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG intacto (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto) u otra clase o isotipo de anticuerpo como se define en el presente documento.

En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-CD3 de acuerdo con cualquiera de los ejemplos anteriores puede incorporar cualquiera de las características, por separado o en combinación, descritas en las secciones 1-7 a continuación.

1. Afinidad del anticuerpo

En una realización, la K_d se mide mediante un ensayo de unión a antígeno radiomarcado (RIA). En una realización de la divulgación, se lleva a cabo un RIA con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno. Por ejemplo, se mide la afinidad de unión en solución de los Fab por el antígeno equilibrando el Fab con una concentración mínima de antígeno marcado con (¹²⁵I) en presencia de una serie de valoración de antígeno no marcado, capturando después el antígeno unido con una placa recubierta con anticuerpo anti-Fab (véase, por ejemplo, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)). Para establecer las condiciones para el ensayo, se recubren durante una noche placas multipocillo MICROTITER® (Thermo Scientific) con 5 µg/ml de un anticuerpo de captura anti-Fab (Cappel Labs) en carbonato de sodio 50 mM (pH 9,6) y posteriormente se bloquea con seroalbúmina bovina al 2 % (p/v) en PBS durante dos a cinco horas a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C). En una placa no adsorbente (Nunc n.º 269620), se mezclan 100 pM o 26 pM de [¹²⁵I]-antígeno con diluciones seriadas de un Fab de interés (por ejemplo, consistente con la evaluación del anticuerpo anti-VEGF, Fab-12, en Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). Después, el Fab de interés se incuba durante una noche; sin embargo, la incubación puede continuar durante un periodo más largo (por ejemplo, aproximadamente 65 horas) para asegurarse de que se alcanza el equilibrio. Posteriormente, se transfieren las mezclas a la placa de captura para su incubación a temperatura ambiente (por ejemplo, durante una hora). Después, la solución se retira y la placa se lava ocho veces con polisorbato 20 al 0,1 % (TWEEN-20®) en PBS. Cuando las placas se han secado, se añaden 150 µl/pocillo de centelleante (MICROSCINT-20™; Packard) y se cuentan las placas en un contador gamma TOPCOUNT™ (Packard) durante diez minutos. Se eligen las concentraciones de cada Fab que proporcionan menos o igual al 20 % de la unión máxima para su uso en ensayos de unión competitiva.

De acuerdo con otra realización de la divulgación, la K_d se mide usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial BIACORE®. Por ejemplo, un ensayo que usa un dispositivo BIACORE®-2000 o BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) se lleva a cabo a 25 °C con placas CM5 de antígeno inmovilizado a ~10 unidades de respuesta (UR). En una realización de la divulgación, las placas biosensoras de dextrano carboximetiladas (CM5, BIACORE, Inc.) se activan con clorhidrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y *N*-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. El antígeno se diluye con acetato de sodio 10 mM, pH 4,8, a 5 µg/ml (~0,2 µM) antes de la inyección a un caudal de 5 µl/minuto para lograr aproximadamente 10 unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Después de la inyección del antígeno, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos que no han reaccionado. Para las mediciones de cinética, se inyectan diluciones seriadas de factor dos de Fab (0,78 nM a 500 nM) en PBS con tensioactivo de polisorbato 20 al 0,05 % (TWEEN-20™) (PBST) a 25 °C a un caudal de aproximadamente 25 µl/min. Las velocidades de asociación (k_{on}) y las velocidades de disociación (k_{off}) se calculan usando un modelo de unión de Langmuir de uno a uno (BIACORE® Evaluation Software, versión 3.2) ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. La constante de disociación en equilibrio (K_d) se calcula como la relación k_{on}/k_{off}. Véase, por ejemplo, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Si la velocidad de asociación supera 10⁶M⁻¹s⁻¹ mediante el ensayo de resonancia de plasmón superficial anterior, puede determinarse la velocidad de asociación usando una técnica de inactivación fluorescente que mide el aumento o la reducción en la intensidad de emisión de fluorescencia (excitación = 295 nm; emisión = 340 nm, paso de banda de 16 nm) a 25 °C de un anticuerpo anti-antígeno 20 nM (forma Fab) en PBS, pH 7,2, en presencia de concentraciones crecientes de antígeno medidas en un espectrómetro, tal como un espectrofotómetro equipado con detención de flujo (Aviv Instruments) o un espectrofotómetro SLM-AMINCO™ de serie 8000 (ThermoSpectronic) con una cubeta agitada.

2. Fragmentos de anticuerpo

En ciertas realizaciones de la divulgación, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un fragmento de anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpo incluyen, pero sin limitación, fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv y scFv y otros fragmentos descritos más adelante. Para una revisión de algunos fragmentos de anticuerpo, véase Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Para una revisión de los fragmentos scFv, véase, por ejemplo, Pluckthun,

en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., (Springer-Verlag, Nueva York), págs. 269-315 (1994); véase también el documento WO 93/16185; y las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.571.894 y 5.587.458. Para un análisis de los fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden restos de epítipo de unión a receptor silvestre y que tienen semivida *in vivo* aumentada, véase la Patente de los Estados Unidos n.º 5.869.046.

Los "diacuerpos" son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véase, por ejemplo, el documento EP 404.097; el documento WO 1993/01161; Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); y Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). También se describen triacuerpos y tetracuerpos en Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

Los anticuerpos de un solo dominio son fragmentos de anticuerpo que comprenden la totalidad o una porción del dominio variable de cadena pesada o la totalidad o una porción del dominio variable de cadena pesada de un anticuerpo. En ciertas realizaciones, un anticuerpo de un solo dominio es un anticuerpo de un solo dominio humano (Domantis, Inc., Waltham, MA; véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos n.º 6.248.516 B1).

Los fragmentos de anticuerpo pueden prepararse mediante diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitación, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como la producción por células hospedadoras recombinantes (por ejemplo, *E. coli* o fago), como se describe en el presente documento.

3. Anticuerpos quiméricos y humanizados

En ciertas realizaciones de la divulgación, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo quimérico. Se describen ciertos anticuerpos quiméricos, por ejemplo, en la patente de los Estados Unidos n.º 4.816.567; y Morrison et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (por ejemplo, una región variable procedente de un ratón, rata, hámster, conejo o primate no humano, tal como un mono) y una región constante humana. En un ejemplo adicional, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo "con la clase cambiada" en el que se ha cambiado la clase o subclase con respecto a la del anticuerpo precursor. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

En ciertas realizaciones de la divulgación, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. Normalmente, un anticuerpo no humano se humaniza para reducir la inmunogenicidad para seres humanos, a la vez que se conserva la especificidad y la afinidad del anticuerpo no humano precursor. En general, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los que las HVR, por ejemplo, las CDR (o porciones de las mismas) proceden de un anticuerpo no humano y las FR (o porciones de las mismas) proceden de secuencias de anticuerpos humanos. Un anticuerpo humanizado también comprenderá opcionalmente al menos una porción de una región constante humana. En algunas realizaciones de la divulgación, se sustituyen algunos restos de FR en un anticuerpo humanizado por restos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que proceden los restos de la HVR), por ejemplo, para restaurar o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

Los anticuerpos humanizados y los métodos para producirlos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) y se describen adicionalmente, por ejemplo, en Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); Patentes de los Estados Unidos n.º 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (que describen el injerto de regiones determinantes de la especificidad (SDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (que describe la "modificación de la superficie"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36: 43-60 (2005) (que describen el "reordenamiento de FR"); y Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) y Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (que describen la estrategia de "selección guiada" para el reordenamiento de FR).

Las regiones marco humanas que pueden usarse para la humanización incluyen, pero sin limitación: regiones marco seleccionadas usando el método de "mejor ajuste" (véase, por ejemplo, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); regiones marco procedentes de la secuencia consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de cadena ligera o pesada (véase, por ejemplo, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); y Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); regiones marco maduras humanas (mutadas somáticamente) o regiones marco de línea germinal humana (véase, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); y regiones marco procedentes de la detección sistemática de bibliotecas de FR (véase, por ejemplo, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) y Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

4. Anticuerpos humanos

En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo humano. Pueden producirse anticuerpos humanos usando diversas técnicas conocidas en la especialidad. Se describen anticuerpos humanos, de manera general, en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) y Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Pueden prepararse anticuerpos humanos administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado

para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a la exposición a antígenos. Dichos animales normalmente contienen la totalidad o una parte de los loci de inmunoglobulina humanos, que reemplazan a los loci de inmunoglobulina endógenos o que están presentes extracromosómicamente o integrados aleatoriamente en los cromosomas del animal. En dichos ratones transgénicos, generalmente se han inactivado los loci de inmunoglobulina endógenos. Para una revisión de los métodos para obtener anticuerpos humanos de animales transgénicos, véase Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005). Véase también, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.075.181 y 6.150.584, que describen la tecnología XENOMOUSE™; la Patente de los Estados Unidos n.º 5.770.429 que describe la tecnología HUMAB®; la Patente de los Estados Unidos n.º 7.041.870 que describe la tecnología K-M MOUSE® y la Publicación de Patente de los Estados Unidos n.º US 2007/0061900, que describe la tecnología VELOCIMOUSE®). Las regiones variables humanas procedentes de anticuerpos intactos generados por dichos animales pueden modificarse además, por ejemplo, por combinación con una región constante humana diferente.

También pueden prepararse anticuerpos humanos mediante métodos basados en hibridoma. Se han descrito líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma de ratón-humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. (Véase, por ejemplo, Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, págs. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987); y Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)). También se describen anticuerpos humanos generados mediante la tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos en Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006). Los métodos adicionales incluyen los descritos, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos n.º 7.189.826 (que describe la producción de anticuerpos IgM humanos monoclonales de líneas celulares de hibridoma) y Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (que describen hibridomas de humano-humano). La tecnología de hibridoma humano (tecnología de Trioma) también se describe en Vollmers y Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) y Vollmers y Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005).

También pueden generarse anticuerpos humanos aislando secuencias de dominio variable de clon de Fv seleccionadas entre bibliotecas de presentación en fago de origen humano. Posteriormente, pueden combinarse dichas secuencias de dominio variable con un dominio constante humano deseado. Las técnicas para seleccionar anticuerpos humanos de bibliotecas de anticuerpos se describen a continuación.

5. Anticuerpos procedentes de bibliotecas

Los anticuerpos de la divulgación pueden aislarse mediante detección sistemática de bibliotecas combinatorias respecto de anticuerpos con la actividad o actividades deseadas. Por ejemplo, se conocen en la técnica diversos métodos para generar bibliotecas de presentación en fagos y para la detección sistemática de dichas bibliotecas respecto de anticuerpos que poseen las características de unión deseadas. Dichos métodos se revisan, por ejemplo, en Hoogenboom et al. en Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) y se describen adicionalmente, por ejemplo, en McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks y Bradbury, en Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); y Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004).

En ciertos métodos de presentación en fagos, se clonan por separado repertorios de genes de VH y VL mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se recombinan aleatoriamente en fagotecas, que posteriormente pueden someterse a detección sistemática respecto de fagos de unión a antígeno como se describe en Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994). Los fagos normalmente presentan fragmentos de anticuerpo, ya sea en forma de fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o en forma de fragmentos Fab. Las bibliotecas de fuentes inmunizadas proporcionan anticuerpos de alta afinidad para el inmunógeno sin necesidad de construir hibridomas. Como alternativa, puede clonarse el repertorio no expuesto previamente (por ejemplo, de ser humano) para proporcionar una sola fuente de anticuerpos para una gran variedad de antígenos no propios y propios sin inmunización alguna, como se describe en Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993). Por último, también pueden producirse sintéticamente bibliotecas sin exposición previa clonando segmentos de gen V no reorganizados de células madre y usando cebadores para la PCR que contienen secuencia aleatoria para codificar las regiones CDR3 altamente variables y para lograr la reorganización *in vitro*, como se describe por Hoogenboom y Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992). Las publicaciones de patente que describen fagotecas de anticuerpo humano incluyen, por ejemplo: la Patente de los Estados Unidos n.º 5.750.373 y las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos n.º 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 y 2009/0002360.

Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo aislados de bibliotecas de anticuerpo humanas se consideran en el presente documento anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpos humanos.

6. Anticuerpos multiespecíficos

En cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 proporcionado en el presente documento es un anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos

son anticuerpos monoclonales que tienen especificidades de unión por al menos dos sitios diferentes. En ciertas realizaciones de la divulgación, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse a dos epítopos diferentes de CD3 (por ejemplo, CD3ε o CD3γ). En determinados aspectos de la divulgación, una de las especificidades de unión es para CD3 (por ejemplo, CD3ε o CD3γ) y la otra es para cualquier otro antígeno (por ejemplo, una segunda molécula biológica, por ejemplo, un antígeno de la superficie celular, por ejemplo, un antígeno tumoral). Por consiguiente, un anticuerpo anti-CD3 biespecífico puede tener especificidades de unión para CD3 y una segunda molécula biológica, tal como una segunda molécula biológica (por ejemplo, un antígeno tumoral) listado en la tabla 1 y descrito en la Publicación de los Estados Unidos n.º 2010/0111856.

TABLA 1. Dianas de antígeno tumoral de los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención

CD20	CD79a	ETBR	IL13Ralpha2	M-CSF	P2X5	SSX-2
0772P	CD79b	proteína de fusión ETV6-AML1	IL20Rα	MCSP	p53	SSX-4
adipofilina	Cdc27	EZH2	Carboxil esterasa intestinal	mdm-2	PAP	STEAP1
AIM-2	CDK4	FcRH1	IRTA2	MDP	PAX5	STEAP1
ALDH1A1	CDKN2A	FcRH2	Calicreína 4	ME1	PBF	STEAP2
alfa-actinina-4	CEA	FcRH5	KIF20A	Melan-A / MART-1	PMEL17	survivina
alfa-fetoproteína	CLL1	FLT3-ITD	KK-LC-1	Meloe	proteína de fusión pml-RARalfa	proteína de fusión SYT-SSX1 o -SSX2
Anfirregulina	CLPP	FN1	KM-HN-1	MMP-2	PRAME	TAG-1
ARTC1	COA-1	G250/ MN /CAIX	K-ras	MMP-7	PRDX5	TAG-2
ASLG659	CPSF	GAGE-1,2,8	LAGE-1	MPF	PSCA	Telomerasa
ASPHD1	CRIPTO	GAGE-3,4,5,6,7	proteína de fusión de LDLR-fucosil transferasa AS	MRP4	PSCA hlg	TENB2
B7-H4	Cw6	GDNF-Ra1	Lengsina	MSG783	PSMA	TGF-betaRII
BAFF-R	CXCR5	GEDA	LGR5	MUC1	PTPRK	TMEFF1
BAGE-1	CXORF 61	GFRA1	LY64	MUC5AC	RAB38 / NY-MEL-1	TMEM118
BCLX (L)	ciclina D 1	glipicano-3	Ly6E	mucina	RAGE-1	TMEM46
proteína de fusión BCR-ABL (b3a2)	Ciclina-A1	GnTVf	Ly6G6D	MUM-1f	RBAF600	TRAG-3
beta-catenina	proteína de fusión dek-can	gp100 / Pmel17	LY6K	MUM-2	RET	Triosafosfato isomerasa
BING-4	DKK1	GPC3	LYPD1	MUM-3	RGS5	TRP-1 /gp75
B-RAF	DR1	GPNMB	MAGE-A1	Clase I de miosina	RhoC	TRP-2
Brevican	DR13	GPR172A	MAGE-A10	NA88-A	RNF43	TRP2-INT2
CALCA	E16	GPR19	MAGE-A12	Napi2b	RNF43	TrpM4
CASP-5	EDAR	GPR54	MAGE-A2	NCA	RU2AS	Tirosinasa
CASP-8	EFTUD 2	HAVCR1	MAGE-A3	neo-PAP	SAGE	tirosinasa
CD19	Factor de elongación 2	HER2	MAGE-A4	NFYC	secernina 1	VEGF
CD21	ENAH (hMena)	HER-2 / neu	MAGE-A6	N-ras	Sema 5b	WT1
CD22	EpCAM	HERV-K-MEL	MAGE-A9	NY-BR-1	SIRT2	XAGE-1 b/GAGED2a
CD33	EphA3	HLA-DOB	MAGE-C1	NY-ESO-1/IAGE-2	SLC35D3	EGFR-T790M;
CD45	EphB2R	hsp70-2	MAGE-C2	OA1	SNRPD1	BMPR1B
CD70	Epirregulina	IDO1	mamaglobina-A	OGT	SOX10	
CD72	EGFR	IGF2B3	MART2	OS-9	Sp17	
EGFR-G719A	EGFR-G719C;	EGFR-G719S;	EGFR-L858R	EGFR-S7681	EGFR-L861Q	

El anticuerpo anti-CD3 biespecífico (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 descritos anteriormente)

pueden tener especificidades de unión por CD3 y una segunda molécula biológica, tal como complejo de antígeno leucocitario humano (HLA)-péptido presentado sobre la superficie celular por el MHC. El anticuerpo anti-CD3 biespecífico (por ejemplo, uno cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 descritos anteriormente) puede tener especificidades de unión por CD3 y una segunda molécula biológica que comprende un complejo de HLA-péptido seleccionado entre el grupo que consiste en 0772P (CA125, MUC16; n.º de referencia de GenBank AF36148); adipofilina (perilipina-2, proteína relacionada con la diferenciación adiposa, ADRP, ADFP, MGC10598; referencia de secuencia del NCBI: NP_001113.2); AIM-2 (Ausente en melanoma 2, PYHIN4, proteína AIM2 inducible por interferón; referencia de secuencia del NCBI: NP_004824.1); ALDH1A1 (familia de aldehído deshidrogenasa 1, miembro A1, ALDH1, PUMB1, retinaldehído deshidrogenasa 1, ALDC, ALDH-E1, ALHDII, RALDH 1, EC 1.2.1.36, ALDH11, HEL-9, HEL-S-53e, HEL12, RALDH 1, acetaldehído deshidrogenasa 1, aldehído deshidrogenasa 1, soluble, aldehído deshidrogenasa, citosólica hepática, ALDH clase 1, proteína luminal epididimaria 12, proteína luminal epididimaria 9, proteína de unión a espermatozoos secretores de epidídimo Li 53e, deshidrogenasa retinal 1, RALDH1, aldehído deshidrogenasa familia 1 miembro A1, aldehído deshidrogenasa, citosólica, EC 1.2.1; referencia de secuencia del NCBI: NP_000680.2); alfa-actinina-4 (ACTN4, actinina, alfa 4, FSGS1, glomeruloesclerosis focal segmentaria 1, alfa actinina 4 no muscular, proteína reticulante con F-actina, GEFS, ACTININ-4, isoforma de actinina alfa4, alfa-actinina-4; referencia de secuencia del NCBI: NP_004915.2); alfa-fetoproteína (AFP, HPAFP, FETA, alfa-1-fetoproteína, alfa-fetoglobulina, alfa-1-fetoproteína, alfa-fetoglobulina, HP; GenBank: AAB58754.1); anfirregulina (AREG, SDGF, factor de crecimiento derivado de Schwannoma, factor de crecimiento derivado de células colorectales, AR, CRDGF; GenBank: AAA51781.1); ARTC1 (ART1, ADP-ribosiltransferasa 1, Mono(ADP-ribosil)transferasa 1, ADP-ribosiltransferasa C2 y C3 similar a toxina 1, ART2, CD296, RT6, ADP-ribosiltransferasa 2, NAD(P)(+)-arginina ADP-ribosiltransferasa 1 ligada a GPI, EC 2.4.2.31, antígeno CD296; NP); ASLG659; ASPHD1 (contenedor 1 de dominio aspartato beta-hidroxilasa, proteína 1 que contiene dominio de aspartato beta-hidroxilasa, EC 1.14.11.-, EC 1.14.11; GenBank: AAI44153.1); B7-H4 (VTCN1, inhibidor de activación de linfocitos T 1 que contiene dominio V-Set, B7H4, miembro 1 de la superfamilia de B7, proteína coestimuladora inmunitaria B7-H4, B7 h.5, molécula coestimuladora de linfocitos T B7x, B7S1, B7X, VCTN1, H4, miembro de la familia de B7, PRO1291, miembro de la familia de B7, H4, molécula coestimuladora de linfocitos T B7x, inhibidor de activación de linfocitos T 1 que contiene dominio V-Set, Proteína B7S1; GenBank: AAZ17406.1); BAFF-R (TNFRSF13C, superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral, miembro 13C, BAFFR, receptor de factor activador de linfocitos B, receptor de BAFF, receptor 3 de BLyS, CVID4, BROMIX, CD268, receptor de factor activador de linfocitos B, prolixina, miembro 13C de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral, BR3, antígeno CD268; referencia de secuencia del NCBI: NP_443177.1); BAGE-1; BCLX (L); proteína de fusión BCR-ABL (b3a2); beta-catenina (CTNNB1, Catenina (proteína asociada con cadherina), Beta 1, 88kDa, CTNNB, MRD19, Catenina (proteína asociada con cadherina), Beta 1 (88kD), armadillo, Catenina Beta-1; GenBank: CAA61107.1); BING-4 (WDR46, dominio de repetición de WD 46, C6orf11, BING4, proteína BING4 que contiene repetición de WD, marco abierto de lectura 11 del cromosoma 6, FP221, UTP7, proteína 46 que contiene repetición de WD; NP); BMPR1B (receptor de tipo IB de proteína morfogenética ósea, n.º de referencia de GenBank NM_00120; NP); B-RAF (Brevican (BCAN, BEHAB, n.º de referencia de GenBank AF22905); Brevican (BCAN, proteoglicano 7 de sulfato de condroitina, proteína de unión a hialuronano enriquecida en cerebro, BEHAB, CSPG7, proteoglicano de brevican, proteína core de brevican, proteoglicano BEHAB de sulfato de condroitina; GenBank: AAH27971.1); CALCA (polipéptido alfa relacionado con calcitonina, CALC1, Calcitonina 1, calcitonina, CGRP de tipo alfa, péptido I relacionado con gen de calcitonina, CGRP-I, CGRP, CGRP1, CT, KC, Calcitonina/polipéptido relacionado con calcitonina, alfa, katalcalcina; NP); CASP-5 (CASP5, Caspasa 5, cisteína peptidasa relacionada con la apoptosis, Caspasa 5, cisteína proteasa relacionada con la apoptosis, Proteasa ICH-3, Proteasa TY, ICE(rel)-III, ICE(rel)III, ICEREL-III, ICH-3, caspasa-5, proteasa TY, EC 3.4.22.58, ICH3, EC 3.4.22; NP); CASP-8; CD19 (CD19 - precursor de isoforma 2 de antígeno de linfocitos B CD19, B4,CVID3 [*Homo sapiens*], referencia de secuencia del NCBI: NP_001761.3); CD20 (CD20 - antígeno de linfocitos B CD20, 4 dominios transmembrana, subfamilia A, miembro 1, B1, Bp35, CD20, CVID5, LEU-16, MS4A2, S7; referencia de secuencia del NCBI: NP_690605.1); CD21 (CD21 (CR2 (receptor de complemento o C3DR (C3d/receptor del virus de Epstein-Barr) o Hs.73792 n.º de referencia de GenBank M2600); (CD22 (isoforma B del receptor de linfocitos B CD22, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814, n.º de referencia de GenBank AK02646); CD22; CD33 (molécula de CD33, antígeno CD33 (Gp67), lectina 3 similar a Ig de unión a ácido siálico, lectina 3 similar a Ig de unión a ácido siálico, SIGLEC3, gp67, SIGLEC-3, antígeno CD33 de la superficie de células mieloides, p67, Siglec-3, antígeno CD33; GenBank: AAH28152.1); CD45; CD70 (CD70 - superfamilia de (ligando) de factor de necrosis tumoral, miembro 7; antígeno de superficie CD70; antígeno Ki-24; ligando de CD27; CD27-L; miembro 7 de la superfamilia de ligando de factor de necrosis tumoral; referencia de secuencia del NCBI para la especie *Homo sapiens*: NP_001243.1); CD72 (CD72 (antígeno de diferenciación de linfocitos B CD72, Lyb-; 359 aa, pl: 8,66, PM: 40225, TM: 1 [P] Cromosoma del gen: 9p13.3, n.º de referencia de GenBank NP_001773); CD79a (CD79a (CD79A, CD79a, alfa asociado a inmunoglobulina, una proteína específica de linfocitos B que interactúa covalentemente con la Ig beta (CD79B) y forma un complejo sobre la superficie con moléculas de IgM, transduce una señal implicada en la diferenciación de linfocitos B), pl: 4,84, PM: 25028 TM: 2 [P] Cromosoma del gen: 19q13.2, n.º de referencia de GenBank NP_001774.1); CD79b (CD79b (CD79B, CD79b, Igb (inmunoglobulina beta-asociada), B29, n.º de referencia de GenBank NM_000626 o 1103867); Cdc27 (ciclo de división celular 27, D0S1430E, D17S978E, subunidad 3 de complejo promotor de anafase, subunidad 3 de complejo - promotor de anafase, ANAPC3, APC3, CDC27Hs, H-NUC, homólogo de CDC27, homólogo de ciclo de división celular 27 (*S. Cerevisiae*), HNUC, NUC2, complejo promotor de anafase, proteína 3, homólogo de ciclo de división celular 27, homólogo de proteína 27 de ciclo de división celular, homólogo de Nuc2; GenBank: AAH11656.1); CDK4 (cinasa 4 dependiente de ciclina, proteína cinasa 4 de división celular, PSK-J3, EC 2.7.11.22, CMM3, EC 2.7.11; referencia de secuencia del NCBI: NP_000066.1); CDKN2A (inhibidor 2A de cinasa dependiente de ciclina, MLM, CDKN2, MTS1,

inhibidor 2A de cinasa dependiente de ciclina (melanoma, P16, inhibe a CDK4), inhibidor A de cinasa 4 dependiente de ciclina, supresor tumoral múltiple 1, CDK4I, MTS-1, CMM2, P16, ARF, INK4, INK4A, P14, P14ARF, P16-INK4A, P16INK4, P16INK4A, P19, P19ARF, TP16, inhibidor P16-INK4 de CDK4, regulador beta negativo del ciclo celular, p14ARF, p16-INK4, p16-INK4a, p16INK4A, p19ARF; NP); CEA; CLL1 (CLL-1 (CLEC12A, MICL y DCAL, codifica un miembro de la lectina de tipo C/superfamilia de dominio similar a lectina de tipo C (CTL/CTLD). Los miembros de esta familia comparten un pliegue de proteína común y tienen diversas funciones, tales como adhesión celular, señalización entre células, renovación de glucoproteínas y papeles en la inflamación y la respuesta inmunitaria. La proteína codificada por este gen es un regulador negativo de la función de granulocitos y monocitos. Se han descrito varias variantes de transcrito de corte y empalme alternativo de este gen, pero aún no se ha determinado la naturaleza de longitud completa de estas variantes. Este gen está estrechamente relacionado con otros miembros de la superfamilia de CTL/CTLD en la región de complejo génico eliminador natural en el cromosoma 12p13 (Drickamer K Curr. Opin. Struct. Biol. 9):585-90; van Rhenen A, et al., Blood 110):2659-66; Chen CH, et al. Blood 107):1459-67; Marshall AS, et al. Eur. J. Immunol. 36):2159-69; Bakker AB, et al. Cancer Res. 64:8443-50; Marshall AS, et al. J. Biol. Chem. 279:14792-80. Se ha demostrado que CLL-1 es un receptor transmembrana de tipo II que comprende un solo dominio similar a lectina de tipo C (que no se ha predicho que se una a calcio o azúcar), una región de tallo, un dominio transmembrana y una cola citoplasmática corta que contiene un motivo ITIM); CLPP (subunidad proteolítica de peptidasa de matriz mitocondrial caseinolítica, endopeptidasa Clp, EC 3.4.21.92, PRLTS3, proteasa ClpAP dependiente de ATP (*E. coli*), ClpP (proteasa caseinolítica, dependiente de ATP, subunidad proteolítica, *E. coli*) homólogo, peptidasa caseinolítica ClpP, dependiente de ATP, homólogo de subunidad proteolítica (*E. coli*), proteasa caseinolítica ClpP, dependiente de ATP, homólogo de subunidad proteolítica (*E. coli*), humano, subunidad proteolítica, proteasa ClpAP dependiente de ATP, subunidad proteolítica, humano, peptidasa caseinolítica ClpP dependiente de ATP, subunidad proteolítica, peptidasa caseinolítica ClpP, dependiente de ATP, homólogo de subunidad proteolítica, proteasa caseinolítica ClpP, dependiente de ATP, homólogo de subunidad proteolítica, supuesta subunidad proteolítica de proteasa Clp dependiente de ATP, mitocondrial; NP); COA-1; CPSF; CRIPTO (CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, factor de crecimiento derivado de teratocarcinoma, n.º de referencia de GenBank NP_003203 o NM_00321); Cw6; CXCR5 CXCR5 (receptor 1 de linfoma de Burkitt, un receptor acoplado a proteína G que se activa por la quimiocina CXCL13, funciona en la migración de linfocitos y la defensa humoral, tiene un papel en la infección por VIH-2 y quizás en el desarrollo de SIDA, linfoma, mieloma y leucemia); 372 aa, pl: 8,54 PM: 41959 TM: 7 [P] Cromosoma del gen: 11q23.3, n.º de referencia de GenBank NP_001707); CXORF61 CXORF61 - marco abierto de lectura 61 del cromosoma X [*Homo sapiens*], referencia de secuencia del NCBI: NP_001017978.1); ciclina D1 (CCND1, BCL1, PRAD1, D11S287E, CLL/linfoma de linfocitos B 1, proteína de linfoma de linfocitos B 1, oncogén BCL-1, oncogén PRAD1, ciclina D1 (PRAD1: adenomatosis paratiroidea 1), ciclina D1 específica de G1/S, adenomatosis paratiroidea 1, U21B31, ciclina D1 específica de G1/S, BCL-1; referencia de secuencia del NCBI: NP_444284.1); ciclina-A1 (CCNA1, CT146, ciclina A1; GenBank: AAH36346.1); proteína de fusión dek-can; DKK1 (inhibidor 1 de la vía de señalización de Dickkopf WNT, SK, hDkk-1, homólogo 1 de Dickkopf (*Xenopus laevis*), homólogo de Dickkopf 1 (*Xenopus laevis*), DKK-1, homólogo de Dickkopf 1, proteína-1 relacionada con Dickkopf, similar a Dickkopf-1, proteína 1 similar a Dickkopf, proteína 1 relacionada con Dickkopf, Dickkopf-1, Dkk-1; GenBank: AAQ89364.1); DR1 (regulador negativo de la transcripción 1, unión a TBP (cofactor negativo 2), cofactor negativo 2-Beta, fosfoproteína asociada a proteína de unión a TATA, NC2, NC2-BETA, proteína Dr1, NC2-beta, regulador negativo de la transcripción 1; referencia de secuencia del NCBI: NP_001929.1); DR13 (complejo principal de histocompatibilidad, Clase II, DR Beta 1, HLA-DR1 B, DRw10, DW2.2/DR2.2, SS1, DRB1, HLA-DRB, antígeno de histocompatibilidad de clase II de HLA, cadena beta de DR-1, antígeno de leucocitos humanos DRB1, antígeno de linfocitos DRB1, antígeno de la clase II del MHC, cadena beta 1 de HLA-DR de clase II del MHC, glucoproteína de superficie celular de HLA-DR-beta de clase II del MHC, HLA-DRw10-beta de clase II del MHC, DR-1, DR-12, DR-13, DR-14, DR-16, DR-4, DR-5, DR-7, DR-8, DR-9, DR1, DR12, DR13, DR14, DR16, DR4, DR5, DR7, DR8, DR9, DRw11, DRw8, HLA-DRB2, Clon P2-Beta-3, antígeno de clase II del MHC DRB1*1, antígeno de clase II del MHC DRB1*10, antígeno de clase II del MHC DRB1*11, antígeno de clase II del MHC DRB1*12, antígeno de clase II del MHC DRB1*13, antígeno de clase II del MHC DRB1*14, antígeno de clase II del MHC DRB1*15, antígeno de clase II del MHC DRB1*16, antígeno de clase II del MHC DRB1*3, antígeno de clase II del MHC DRB1*4, antígeno de clase II del MHC DRB1*7, antígeno de clase II del MHC DRB1*8, antígeno de clase II del MHC DRB1*9; NP); E16 (E16 (LAT1, SLC7A5, n.º de referencia de GenBank NM_00348); EDAR (EDAR - precursor EDAR de miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral, receptor EDA-A1; homólogo de downless; receptor de ectodisplasina-A; receptor de displasia ectodérmica; receptor 1 de ectodisplasina anhidrótica, DL; ECTD10A; ECTD10B; ED1R; ED3; ED5; EDA-A1R; EDA1R; EDA3; HRM1 [*Homo sapiens*]; referencia de secuencia del NCBI: NP_071731.1); EFTUD2 (contenedor 2 de dominio de unión a GTP de factor de elongación Tu, proteína 2 que contiene dominio de unión a GTP de factor de elongación Tu, hSNU114, homólogo de SNU114, proteína U5 específica de SnRNP, 116 KDa, MFDGA, KIAA0031, 116 KD, proteína U5 específica de SnRNP, componente de ribonucleoproteína nuclear pequeña U5 de 116 kDa, MFDm, SNRNP116, Snrp116, Snu114, U5-116KD, SNRP116, U5-116 KDa; GenBank: AAH02360.1); EGFR (receptor de factor de crecimiento epidérmico, ERBB, Proto-oncogén C-ErbB-1, proteína tirosina cinasa receptora ErbB-1, ERBB1, HER1, EC 2.7.10.1, receptor de factor de crecimiento epidérmico (homólogo de oncogén de la leucemia eritroblástica vírica aviar (V-Erb-B)), homólogo de oncogén de leucemia eritroblástica vírica (V-Erb-B) (aviar), PIG61, homólogo de oncogén de la leucemia eritroblástica vírica aviar (V-Erb-B), proteína inhibidora del crecimiento celular 40, proteína inductora de proliferación celular 61, mENA, EC 2.7.10; GenBank: AAH94761.1); EGFR-G719A; EGFR-G719C; EGFR-G719S; EGFR-L858R; EGFR-L861Q; EGFR-S768I; EGFR-T790M; factor de elongación 2 (EEF2, factor de elongación de la traducción eucariota 2, EF2, polipeptidil-ARNt translocasa, EF-2, SCA26, EEF-2; referencia de secuencia del NCBI: NP_001952.1); ENAH (hMena) (homólogo de Enabled (*Drosophila*),

MENA, Enabled de mamífero, ENA, NDPP1, homólogo de proteína Enabled; GenBank: AAH95481.1) - resultados solo para "ENAH" no "ENAH (hMena)"; EpCAM (molécula de adhesión celular epitelial, M4S1, MIC18, transductor de señal de calcio asociado a tumores 1, TACSTD1, TROP1, antígeno asociado a adenocarcinoma, glucoproteína Trop-1 de la superficie celular, glucoproteína epitelial 314, proteína principal asociada con tumor gastrointestinal GA733-2, EGP314, KSA, DIAR5, HNPCC8, antígeno identificado por el anticuerpo monoclonal AUA1, EGP-2, EGP40, ESA, KS1/4, MK-1, glucoproteína epitelial humana-2, componente de membrana, cromosoma 4, marcador de superficie (glucoproteína de 35kD), EGP, Ep-CAM, GA733-2, M1S2, antígeno CD326, antígeno de la superficie celular epitelial, hEGP314, antígeno KS 1/4, ACSTD1; GenBank: AAH14785.1); EphA3 (receptor A3 de EPH, ETK1, ETK, TYRO4, HEK, tirosina cinasa 1 similar a Eph, proteína tirosina cinasa receptora ETK1, EK4, cinasa 4 similar a EPH, EC 2.7.10.1, EPHA3, HEK4, receptor 3 de efrina de tipo A, cinasa embrionaria humana 1, proteína tirosina cinasa TYRO4, hEK4, cinasa embrionaria humana, proteína tirosina cinasa TYRO4, EC 2.7.10; GenBank: AAH63282.1); EphB2R; Epirregulina (EREG, ER, proepirregulina; GenBank: AAI36405.1); ETBR (EDNRB, receptor de endotelina de tipo B, HSCR2, HSCR, receptor de endotelina de tipo no selectivo, ET-B, ET-BR, ETRB, ABCDS, WS4A, ETB, receptor B de endotelina; NP); proteína de fusión ETV6-AML1; EZH2 (potenciador de homólogo 2 de Zeste (*Drosophila*), lisina N-metiltransferasa 6, ENX-1, KMT6 EC 2.1.1.43, EZH1, WVS, potenciador de homólogo 2 de Zeste (*Drosophila*), ENX1, EZH2b, KMT6A, WVS2, Histona-lisina N-metiltransferasa EZH2, potenciador de homólogo 2 de Zeste, EC 2.1.1; GenBank: AAH10858.1); FcRH1 (FCRL1, similar 1 a receptor de Fc, FCRH1, homólogo 1 de receptor de Fc, proteína 1 similar a FcR, proteína 5 asociada con la traslocación de receptor inmunitario, IFGP1, IRTA5, hIFGP1, proteína 1 de la familia de IFGP, CD307a, proteína 1 similar a receptor de Fc, receptor de Fc de la superfamilia de inmunoglobulina, Gp42, FcRL1, antígeno CD307a; GenBank: AAH33690.1); FcRH2 (FCRL2, similar 2 a receptor de Fc, SPAP1, proteína 1 de anclaje a fosfato que contiene dominio SH2, homólogo 2 de receptor de Fc, proteína 2 similar a FcR, proteína 4 asociada con la traslocación de receptor de inmunoglobulina, FCRH2, IFGP4, IRTA4, proteína 4 de la familia de IFGP, SPAP1A, SPAP1B, SPAP1C, CD307b, proteína 2 similar a receptor de Fc, proteína 4 asociada con la traslocación de receptor inmunitario, receptor de Fc de la superfamilia de inmunoglobulina, Gp42, proteína 1 de anclaje a fosfato que contiene dominio SH2, FcRL2, antígeno CD307b; GenBank: AAQ88497.1); FcRH5 (FCRL5, similar 5 a receptor de Fc, IRTA2, homólogo 5 de receptor de Fc, proteína 5 similar a FcR, proteína 2 asociada con la traslocación de receptor inmunitario, BXMAS1, FCRH5, CD307, CD307e, PRO820, proteína 5 similar a receptor de Fc, asociada 2 con la traslocación del receptor de la superfamilia de inmunoglobulina (IRTA2), FcRL5, antígeno CD307e; GenBank: AA101070.1); FLT3-ITD; FN1 (Fibronectina 1, globulina insoluble en frío, FN, factor estimulante de la migración, CIG, FNZ, GFND2, LETS, ED-B, FINC, GFND, MSF, fibronectina; GenBank: AAI43764.1); G250 (MN, CAIX, anhidrasa carbónica IX, deshidratasa carbónica, proteína G250 asociada con RCC, carbonato deshidratasa IX, antígeno de membrana MN, antígeno G250 asociado a carcinoma de células renales, CA-IX, P54/58N, pMW1, Antígeno G250 asociado a RCC, anhidrasa carbónica 9; NP); - resultados de seudónimos para "G250" no "G250 / MN / CAIX"; GAGE-1.2.8; GAGE-3.4.5.6.7; GDNF-Ra1 (receptor alfa 1 de la familia de GDNF; GFRA1; GDNFR; GDNFRA; RETL1; TRNR1; RET1L; GDNFR-alfa1; GFR-alfa-; U95847; BC014962; NM_145793 NM_005264); GEDA (n.º de referencia de GenBank AY26076); GFRA1 - receptor alfa-1 de la familia de GDNF; receptor alfa-1 de GDNF; GDNFR-alfa-1; GFR-alfa-1; ligando 1 de RET; receptor 1 de factor neurotrófico relacionado con TGF-beta [*Homo sapiens*]; ProtKB/Swiss-Prot: P56159.2; glipicano-3 (GPC3, glipicano 3, SDYS, proteoglicano de glipicano 3, proteína intestinal OCI-5, GTR2-2, MXR7, SGBS1, DGSX, OCI-5. SGB, SGBS, proteoglicano de heparán sulfato, glipicano-3 secretado, OCI5; GenBank: AAH35972.1); GnTVf; gp100 (PMEL, proteína premelanosoma, SILV, D12S53E, PMEL17, SIL, proteína de melanocitos Pmel 17, antígeno específico de linaje de melanocitos GP100, antígeno ME20 asociado a melanoma, homólogo de proteína de locus de Silver, ME20-M, ME20M, P1, P100, similar a Silver (homólogo de ratón), homólogo de Silver (ratón), ME20, SI, proteína de melanocitos Mel 17, proteína de melanocitos PMEL, proteína 17 de matriz melanosómica, Silver, Ratón, homólogo de; GenBank: AAC60634.1); GPC; GPNMB (glucoproteína (transmembrana) Nmb, glucoproteína NMB, proteína similar a glucoproteína Nmb, osteoactivina, glucoproteína transmembrana HGFIN, HGFIN, NMB, glucoproteína transmembrana, glucoproteína transmembrana NMB; GenBank: AAH32783.1); GPR172A (receptor 172A acoplado a proteína G; GPCR41; FLJ11856; D15Erd747e); NP_078807.1; NM_024531.3); GPR19 (receptor 19 acoplado a proteína G; Mm.478; NP_006134.1; NM_006143.2); GPR54 (receptor KISS1; KISS1R; GPR54; HOT7T175; AXOR1; NP_115940.2; NM_032551.4); HAVCR1 (receptor celular 1 del virus de la hepatitis A, miembro 1 de la familia de inmunoglobulina de linfocitos T, molécula 1 de lesión renal, KIM-1, KIM1, TIM, TIM-1, TIM1, TIMD-1, TIMD1, receptor 1 de mucina de inmunoglobulina de linfocitos T, proteína 1 de membrana de linfocitos T, HAVCR, HAVCR-1, proteína 1 de dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y de dominio de mucina, HAVcr-1, proteína 1 que contiene dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y de mucina; GenBank: AAH13325.1); HER2 (ERBB2, homólogo 2 del oncogén vírico de leucemia eritroblástica aviar V-Erb-B2, NGL, NEU, homólogo de oncogén derivado de neuro/glioblastoma, proteína de gen 19 de ganglio linfático metastásico, Proto-oncogén C-ErbB-2, Proto-oncogén Neu, receptor HER2 de la superficie celular de tipo tirosina cinasa, MLN 19, p185erbB2, EC 2.7.10.1, homólogo 2 del oncogén vírico de leucemia eritroblástica aviar V-Erb-B2 (homólogo de oncogén derivado de neuro/glioblastoma), CD340, HER-2, HER-2/neu, TKR1, proteína C-Erb B2/Neu, herstatina, homólogo de oncogén derivado de neuroblastoma/glioblastoma, proteína tirosina cinasa receptora ErbB-2, homólogo 2 del oncogén vírico de leucemia eritroblástica V-Erb-B2, homólogo de oncogén derivado de neuro/glioblastoma, MLN19, antígeno CD340, EC 2.7.10; NP); HER-2 / neu - alias del anterior; HERV-K-MEL; HLA-DOB (subunidad beta de la molécula de clase II del MHC (antígeno Ia) que se une a péptidos y los presenta a linfocitos T CD4+); 273 aa, pl: 6,56, PM: 30820.TM: 1 [P] Cromosoma del gen: 6p21.3, n.º de referencia de GenBank NP_002111); hsp70-2 (HSPA2, proteína de choque térmico 2 de 70KDa, proteína de choque térmico 2 de 70KD, HSP70-3, proteína 2 relacionada con choque térmico de 70 KDa, proteína de choque térmico 2 de 70 KDa; GenBank: AAD21815.1); IDO1 (Indolamina 2,3-dioxigenasa 1, IDO, INDO, Indolamina-Pirrol 2,3-dioxigenasa, IDO-1, Indolamina-Pirrol 2,3 dioxigenasa, Indolamina 2,3 dioxigenasa, indol

2,3 dioxigenasa, EC 1.13.11.52; referencia de secuencia del NCBI: NP_002155.1); IGF2B3; IL13Ralf2 (IL13RA2, receptor de interleucina 13, alfa 2, antígeno 19 de cáncer/testículo, proteína de unión a interleucina-13, IL-13R-alfa-2, IL-13RA2, subunidad alfa-2 del receptor de IL-13, subunidad alfa-2 de IL-13R, CD213A2, CT19, IL-13R, IL13BP, proteína de unión a interleucina 13, cadena alfa 2 de receptor de interleucina 13, subunidad alfa-2 del receptor de interleucina-13, IL13R, antígeno CD213a2; NP); IL20Ra; Carboxil esterasa intestinal; IRTA2 (seudónimo de FcRH5); Calicreína 4 (KLK4, peptidasa 4 relacionada con calicreína, PRSS17, EMSP1, serina proteasa 1 de matriz del esmalte, proteína 1 similar a Calicreína, serina proteasa 17, KLK-L1, PSTS, AI2A1, Calicreína 4 (prostasa, matriz del esmalte, próstata), ARM1, EMSP, mensaje regulado por andrógenos 1, serina proteasa 1 de matriz del esmalte, calicreína, calicreína-4, prostasa, EC 3.4.21.-, Prostasa, EC 3.4.21; GenBank: AAX30051.1); KIF20A (miembro 20A de la familia de cinesina, RAB6KIFL, interacción con RAB6, similar a cinesina (Rabcsinesina6), mitótica a; LAGE-1; proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasa AS; Lengsina (LGSN, Lengsina, proteína de la lente con dominio de glutamina sintetasa, GLULD1, Proteína 1 que contiene dominio de glutamato-amoniaco liasa, LGS, contenedor 1 de dominio de glutamato-amoniaco ligasa (glutamina sintetasa), contenedor 1 de dominio de glutamato-amoniaco ligasa (glutamina sintasa), similar a glutamina sintasa de la lente; GenBank: AAF61255.1); LGR5 (receptor 5 acoplado a proteína G que contiene repeticiones ricas en leucina; GPR49, GPR6; NP_003658.1; NM_003667.2; LY64 (antígeno linfocitario 64 (RP10, proteína de membrana de tipo I de la familia de repeticiones ricas en leucina (LRR), regula la activación y la apoptosis de linfocitos B, la pérdida de función se asocia con un aumento de la actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico); 661 aa, pl: 6,20, PM: 74147 TM: 1 [P] Cromosoma del gen: 5q12, n.º de referencia de GenBank NP_005573.; Ly6E (complejo de antígeno linfocitario 6, locus E; Ly67, RIG-E, SCA-2, TSA-; NP_002337.1; NM_002346.2); Ly6G6D (complejo de antígeno linfocitario 6, locus G6D; Ly6-D, MEGT; NP_067079.2; NM_021246.2); LY6K (complejo de antígeno linfocitario 6, locus K; LY6K; HSJ001348; FLJ3522; NP_059997.3; NM_017527.3); LyPD1 - contenedor 1 de dominio LY6/PLAUR, PHTS [*Homo sapiens*], GenBank: AAH17318.1); MAGE-A1 (familia A de antígenos de melanoma, 1 (dirige la expresión del antígeno MZ2-E, MAGE1, familia A 1 de antígenos de melanoma, MAGEA1, antígeno de melanoma MAGE-1, antígeno 1 asociado a melanoma, antígeno MZ2-E asociado a melanoma, antígeno MZ2-E, antígeno 1,1 de cáncer/testículo, CT1.1, antígeno MAGE-1, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 1, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 1, MAGE1A; referencia de secuencia del NCBI: NP_004979.3); MAGE-A10 (MAGEA10, familia A de antígenos de melanoma, 10, MAGE10, antígeno MAGE-10, antígeno 10 asociado a melanoma, antígeno 1,10 de cáncer/testículo, CT1.10, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 10, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 10; referencia de secuencia del NCBI: NP_001238757.1); MAGE-A12 (MAGEA12, familia A de antígenos de melanoma, 12, MAGE12, antígeno 1,12 de cáncer/testículo, CT1.12, antígeno MAGE12F, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 12, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 12, antígeno 12 asociado a melanoma, antígeno MAGE-12; referencia de secuencia del NCBI: NP_001159859.1); MAGE-A2 (MAGEA2, familia A de antígenos de melanoma, 2, MAGE2, antígeno 1,2 de cáncer/testículo, CT1.2, MAGEA2A, antígeno MAGE-2, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 2, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 2, antígeno 2 de melanoma, antígeno 2 asociado a melanoma; referencia de secuencia del NCBI: NP_001269434.1); MAGE-A3 (MAGEA3, familia A de antígenos de melanoma, 3, MAGE3, antígeno MAGE-3, antígeno MZ2-D, antígeno 3 asociado a melanoma, antígeno 1,3 de cáncer/testículo, CT1.3, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 3, HIP8, HYPD, MAGEA6, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 3; referencia de secuencia del NCBI: NP_005353.1); MAGE-A4 (MAGEA4, familia A de antígenos de melanoma, 4, MAGE4, antígeno 4 asociado a melanoma, antígeno 1,4 de cáncer/testículo, CT1.4, antígeno MAGE-4, antígeno MAGE-41, antígeno MAGE-X2, MAGE4A, MAGE4B, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 4, MAGE-41, MAGE-X2, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 4; referencia de secuencia del NCBI: NP_001011550.1); MAGE-A6 (MAGEA6, familia A de antígenos de melanoma, 6, MAGE6, antígeno MAGE-6, antígeno 6 asociado a melanoma, antígeno 1,6 de cáncer/testículo, CT1.6, antígeno MAGE3B, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, familia A 6 de antígenos de melanoma, miembro 6, MAGE-3b, MAGE3B, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 6; referencia de secuencia del NCBI: NP_787064.1); MAGE-A9 (MAGEA9, familia A de antígenos de melanoma, 9, MAGE9, antígeno MAGE-9, antígeno 9 asociado a melanoma, antígeno 1,9 de cáncer/testículo, CT1.9, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 9, familia 1 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 9, MAGEA9A; referencia de secuencia del NCBI: NP_005356.1); MAGE-C1 (MAGEC1, familia C de antígenos de melanoma, 1, antígeno 7.1 de cáncer/testículo, CT7.1, antígeno MAGE-C1, familia 7 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 1, CT7, familia 7 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 1, antígeno C1 asociado a melanoma; referencia de secuencia del NCBI: NP_005453.2); MAGE-C2 (MAGEC2, familia C de antígenos de melanoma, 2, MAGEE1, antígeno 10 de cáncer/testículo, CT10, HCA587, antígeno de melanoma, familia E, 1, específico para cáncer/testículo, antígeno 587 asociado a carcinoma hepatocelular, antígeno MAGE-C2, antígeno MAGE-E1, antígeno 587 de cáncer hepatocelular, antígeno C2 asociado a melanoma; referencia de secuencia del NCBI: NP_057333.1); mammaglobina-A (SCGB2A2, Secretoglobina, familia 2A, miembro 2, MGB1, Mammaglobina 1, UGB2, Mammaglobina A, mammaglobina-A, Mammaglobina-1, miembro 2 de la familia 2A de secretoglobina; NP); MART2 (HHAT, aciltransferasa de Hedgehog, SKI1, antígeno de melanoma reconocido por linfocitos T 2, proteína Skinny Hedgehog 1, Skn, antígeno de melanoma reconocido por linfocitos T 2, proteína-cisteína N-palmitoiltransferasa HHAT, EC 2.3.1.-; GenBank: AAH39071.1); M-CSF (CSF1, factor estimulante de colonias 1 (macrófagos), MCSF, CSF-1, lanimostim, factor estimulante de colonias de macrófagos 1, Lanimostim; GenBank: AAH21117.1); MCSP (SMCP, proteína rica en cisteína asociada con mitocondrias de esperma, MCS, selenoproteína de la cápsula mitocondrial, HSMCSGEN1, proteína rica en cisteína asociada con mitocondrias del esperma; referencia de secuencia del NCBI: NP_109588.2); XAGE-1b/GAGED2a; WT1 (tumor de Wilms 1, WAGR, GUD, WIT-2, WT33, dominio aminoterminal de EWS, NPHS4, últimos tres dedos de cinc del dominio de unión a ADN de WT1, AWT1, proteína de tumor de Wilms, EWS-WT1; GenBank: AAB33443.1); VEGF; tirosinasa (TYR; OCA1A; OCA1A; tirosinasa; SHEP;

NP_000363.1; NM_000372.4; GenBank: AAB60319.1); TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, receptor potencial transitorio del canal de cationes, subfamilia M, miembro 4, n.º de referencia de GenBank NM_01763); TRP2-INT2; TRP-2; TRP-1 / gp75 (proteína 1 relacionada con tirosinasa, oxidasa del ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico, CAS2, CATB, TYRP, OCA3, Catalasa B, b-PROTEIN, glucoproteína 75, EC 1.14.18., antígeno de melanoma Gp75, TYRP1, TRP, TYRRP, TRP1, SHEP11, DHICA Oxidasa, EC 1.14.18, GP75, EC 1.14.18.1; trisafosfato isomerasa (trisafosfato isomerasa 1, TPID, trisafosfato isomerasa, HEL-S-49, TIM, proteína secretora epididimaria Li 49, TPI, trisafosfato isomerasa, EC 5.3.1.1; TRAG-3 (miembro 2 de la familia de CSAG, familia 24 de antígeno de cáncer/testículo, CSAG3B, miembro 2, miembro 3B de la familia de CSAG, miembro 2 de la familia 24 de antígeno de cáncer/testículo, antígeno 24.2 de cáncer/testículo, proteína del gen 2/3 asociado a condrosarcoma, proteína de gen 3 asociada con resistencia a taxol, similar a proteína del gen 2/3 asociado a condrosarcoma, CT24.2, gen 3 asociado a la resistencia al taxol, TRAG-3, CSAG3A, TRAG3); TMEM46 (homólogo 2 de shisa (*Xenopus laevis*); SHISA; NP_001007539.1; NM_001007538.1; TMEM118 (proteína de dedo anular, transmembrane2; RNFT2; FLJ1462; NP_001103373.1; NM_001109903.1; TMEFF1 (proteína transmembrana con dominios similares a EGF y dos similares a folistatina 1; Tomoregulina-; H7365; C9orf2; C9ORF2; U19878; X83961; NM_080655; NM_003692; TGF-betaRII (TGFBR2, factor de crecimiento transformante, Beta Receptor II (70/80kDa), TGFbeta-RII, MFS2, tbetaR-II, TGFR-2, TGF-Beta Receptor tipo IIB, TGF-Beta tipo II receptor, TGF-Beta receptor tipo-2, EC 2.7.11.30, receptor beta de factor de crecimiento transformante de tipo IIC, AAT3, TbetaR-II, factor de crecimiento transformante, Beta Receptor II (70-80kD), TGF-Beta Receptor tipo II, FAA3, receptor beta de factor de crecimiento transformante de tipo II, LDS1B, HNPPC6, LDS2B, LDS2, RIIC, EC 2.7.11, TAAD2; TENB2 (TMEFF2, tomorregulina, TPEF, HPP1, TR, supuesto proteoglucano transmembrana, relacionado con la familia de factores de crecimiento de EGF/herregulina y folistatina); 374 aa, registro del NCBI: AAD55776, AAF91397, AAG49451, RefSeq del NCBI: NP_057276; Gen del NCBI: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; n.º de referencia de GenBank AF179274; AY358907, CAF85723, CQ782436; TAG-2; TAG-1 (Contactina 2 (Axonal), TAG-1, AXT, molécula de adhesión celular axonina-1, TAX, Contactina 2 (expresada transitoriamente), TAX1, Contactina-2, glucoproteína axonal TAG-1, glucoproteína axonal expresada transitoriamente, glucoproteína axonal transitoria, Axonina-1, TAX-1, TAG1, FAME5; PRF: 444868); proteína de fusión SYT-SSX1 o-SSX2; survivina; STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, gen 1 asociado a cáncer de próstata, proteína 1 asociada con cáncer de próstata, antígeno epitelial de próstata 2 de seis transmembrana, proteína seis transmembrana de la próstata, n.º de referencia de GenBank AF45513; STEAP1 (antígeno epitelial de próstata de seis transmembrana, n.º de referencia de GenBank NM_01244; SSX-4; SSX-2 (SSX2, sarcoma sinovial, X Breakpoint2, X Breakpoint 2, SSX, X Breakpoint 2B, antígeno 5.2 de cáncer/testículo, relacionado 2 con el cromosoma X, antígeno tumoral HOM-MEL-40, CT5.2, HD21, familia 5 de antígeno de cáncer/testículo, HOM-MEL-40, Isoforma B, miembro 2a de la familia 5 de antígeno de cáncer/testículo, miembro 2a, proteína SSX2, sarcoma, sarcoma, Sinovial, relacionado 2 con el cromosoma X, sinovial, sarcoma sinovial, X Breakpoint 2B, sarcoma sinovial, SSX2A; Sp17; SOX10 (SRY (región determinante del sexo Y)-caja 10, ratón, PCWH, DOM, WS4, WS2E, WS4C, megacolon dominante, ratón, homólogo de humano, megacolon dominante, gen 10 de caja de HMG relacionado con SRY, homólogo de humano, factor de transcripción SOX-10; GenBank: CAG30470.1); SNRPD1 (ribonucleoproteína nuclear pequeña D1, ribonucleoproteína nuclear pequeña D1, polipéptido de 16kDa, polipéptido (16kD), SNRPD, HsT2456, Sm-D1, SMD1, autoantígeno Sm-D, pseudogén del polipéptido de 16kDa de ribonucleoproteína nuclear pequeña D1, proteína core D1 de SnRNP, ribonucleoproteína nuclear pequeña Sm D1; SLC35D3 (familia de transportadores de soluto 35, miembro D3, FRCL1, proteína 1 similar a conexión de Fringe, bA55K22.3, Frc, similar a Fringe 1, familia de transportadores de soluto 35 miembro D3; NCBI GenBank: NC_000006.11 NC_018917.2 NT_025741.16); SIRT2 (Sirtuina 2, sirtuina-2 desacetilasa dependiente de NAD, SIRT2, regulador de información silente 2, homólogo 2 de proteína reguladora SIR2, proteína de tipo 2 relacionada con Sir2, proteína 2 similar a SIR2, Sirtuina tipo 2, Sirtuina (homólogo de regulación de la información 2 de tipo emparejamiento silente) 2 (*S. cerevisiae*), Sirtuina-2, Sirtuina (regulación de la información 2 de tipo emparejamiento silente, *S. cerevisiae*, homólogo) 2, EC 3.5.1., SIR2; GenBank: AAK51133.1); Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, semaforina 5b Hlog, dominio sema, siete repeticiones de trombospondina (tipo 1 y similar a tipo 1), dominio transmembrana (TM) y dominio citoplasmático corto, (semaforina) 5B, n.º de referencia de GenBank AB04087; secermina 1 (SCRN1, SES1, KIAA0193, secerina-1; GenBank: EAL24458.1); SAGE (SAGE1, antígeno 1 de sarcoma, antígeno 14 de cáncer/testículo, CT14, supuesto antígeno tumoral; referencia de secuencia del NCBI: NP_061136.2); RU2AS (KAAG1, antígeno 1 asociado a riñón, RU2AS, proteína génica antisentido RU2, antígeno 1 asociado a riñón; GenBank: AAF23613.1); RNF43 - precursor RNF43 de ubiquitina-proteína ligasa E3 [*Homo sapiens*], RNF124; URCC; referencia de secuencia del NCBI: NP_060233.3; RhoC (RGS5 (regulador 5 de la señalización de proteína G, MSTP032, regulador 5 de la señalización de proteína G, MSTP092, MST092, MSTP106, MST106, MSTP129, MST129; GenBank: AAB84001.1); RET (protooncogén ret; MEN2A; HSCR1; MEN2B; MTC1; PTC; CDHF12; Hs.168114; RET51; RET-ELE; NP_066124.1; NM_020975.4); RBAF600 (UBR4, componente N de ubiquitina proteína ligasa E3-recognina 4, dedo de cinc, UBR1 tipo 1, ZUBR1, E3 ubiquitina-proteína ligasa UBR4, RBAF600, factor asociado a proteína de retinoblastoma de 600 kDa, proteína 1 de tipo UBR1 de dedo de cinc, EC 6.3.2., N-recognina-4, KIAA0462, p600, EC 6.3.2, KIAA1307; GenBank: AAL83880.1); RAGE-1 (MOK, MOK proteína cinasa, antígeno de tumor renal, RAGE, cinasa solapante MAPK/MAK/MRK, antígeno de tumor renal 1, antígeno de carcinoma de células renales, RAGE-1, EC 2.7.11.22, RAGE1; UniProtKB/Swiss-Prot: Q9UQ07.1); RAB38/NY-MEL-1 (RAB38, NY-MEL-1, RAB38, miembro de la familia de oncogenes RAS, antígeno de melanoma NY-MEL-1, proteína de unión a GTP relacionada con RAB, proteína Rab-38 relacionada con Ras, rrGTPbp; GenBank: AAH15808.1); PTPRK (DJ480J14.2.1 (proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, K R-PTP-KAPPA, proteína tirosina fosfatasa Kappa, proteína tirosina fosfatasa Kappa), proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, K, proteína tirosina fosfatasa Kappa, proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, Kappa, R-PTP-kappa, tirosina proteína fosfatasa Kappa de tipo receptor, EC 3.1.3.48,

PTPK; GenBank: AAI44514.1); PSMA; PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008O16Rik, RIKEN ADNc 2700050C12, RIKEN ADNc 2700050C12 gen, n.º de referencia de GenBank AY358628); PSCA (precursor de antígeno de células madre de próstata, n.º de referencia de GenBank AJ29743; PRDX5 (Peroxirredoxina 5, EC 1.11.1.15, TPx tipo VI, B166, enzima antioxidante B166, HEL-S-55, tejido hepático 2D-Page Spot 71B, PMP20, enzima antioxidante peroxisómica, PRDX6, tiorredoxina peroxidasa PMP20, PRXV, AOEB166, proteína secretora epididimaria Li 55, correpresor de Alu 1, Peroxirredoxina-5, mitocondrial, Peroxirredoxina V, prx-V, Tiorredoxina Reductasa, Prx-V, ACR1, correpresor de Alu, PLP; GenBank: CAG33484.1); PRAME (antígeno expresado preferencialmente en melanoma, antígeno expresado preferencialmente de melanoma, MAPE, OIP-4, OIPA, CT130, antígeno 130 de cáncer/testículo, antígeno de melanoma expresado preferencialmente en tumores, Proteína 4 que interactúa con Opa, Proteína OIP4 que interactúa con Opa; GenBank: CAG30435.1); proteína de fusión pml-RAR alfa; PMEL17 (homólogo de silver; SILV; D12S53E; PMEL17; SI; SIL); ME20; gp10 BC001414; BT007202; M32295; M77348; NM_006928; PBF (ZNF395, proteína de dedo de cinc 395, PRF-1, regulador de la enfermedad de Huntington, proteína de unión a la región reguladora del gen de HD, proteína de unión a la región 2, proteína 2, factor 1 regulador de papilomavirus, factor 2 regulador de HD, factor regulador de papilomavirus, PRF1, HDBP-2, Si-1-8-14, HDBP2, proteína 2 de unión a la región reguladora del gen de la enfermedad de Huntington, HDBF-2, factor PRF-1 regulador de papilomavirus, PBF; GenBank: AAH01237.1); PAX5 (caja emparejada 5, gen homeótico 5 de caja emparejada, BSAP, proteína Pax-5 de caja emparejada, activador específico del linaje de linfocitos B, gen 5 de dominio emparejado, gen 5 de caja emparejada (proteína activadora específica del linaje de linfocitos B), factor de transcripción específico de linfocitos B, gen 5 de caja emparejada (activador específico del linaje de linfocitos B); PAP (REG3A, derivada 3 de islote de regeneración alfa, INGAP, PAP-H, proteína pancreática hepatointestinal, PBBCGF, péptido proislote humano, REG-III, proteína 1 asociada con pancreatitis, Reg3, Reg III-alfa, hepatocarcinoma-intestino-páncreas, proteína III-alfa derivada de islote de regeneración, factor de crecimiento de células beta pancreáticas, HIP, proteína homóloga de PAP, HIP/PAP, proteína inductora de proliferación 34, PAP1, proteína inductora de proliferación 42, REG-3-alfa, proteína 3-alfa derivada de islote de regeneración, proteína asociada con pancreatitis; GenBank: AAH36776.1); p53 (TP53, proteína tumoral P53, TPR53, P53, antígeno tumoral celular P53, antígeno NY-CO-13, proteína tumoral mutante 53, fosfoproteína P53, supresor tumoral P53, BCC7, proteína 53 relacionada con la transformación, LFS1, proteína tumoral 53, síndrome de Li-Fraumeni, supresor tumoral P53; P2X5 (canal de iones 5 activado por ligando P2X de receptor prurinérgico, un canal de iones activado por ATP extracelular, puede estar implicado en la transmisión sináptica y la neurogénesis, su deficiencia puede contribuir a la fisiopatología de la inestabilidad del detrusor idiopática; 422 aa), pl: 7,63, PM: 47206 TM: 1 [P] Cromosoma del gen: 17p13.3, n.º de referencia de GenBank NP_002552.; OGT (N-acetilglucosamina (GlcNAc) transferasa unida a O, subunidad P110 de O-GlcNAc transferasa, N-acetilglucosamina (GlcNAc) transferasa unida a O (UDP-N-acetilglucosamina:polipéptido-N-acetilglucosaminil transferasa, subunidad de 110 KDa de UDP-N-acetilglucosamina-péptido N-acetilglucosaminiltransferasa, UDP-N-acetilglucosamina:polipéptido-N-acetilglucosaminil transferasa, uridinafosfo-N-acetilglucosamina:polipéptido beta-N-acetilglucosaminil transferasa, subunidad P110 de O-GlcNAc transferasa, EC 2.4.1.255, subunidad de 110 KDa de N-acetilglucosamina transferasa unida a O, EC 2.4.1, HRNT1, EC 2.4.1.186, O-GLCNAc; GenBank: AAH38180.1); OA1 (artrosis QTL 1, OASD; GenBank: CAA88742.1); NY-ESO-1/IAE-2 (antígeno 1B de cáncer/testículo, CTAG1B, NY-ESO-1, LAGE-2, ESO1, CTAG1, CTAG, LAGE2B, antígeno 1 de cáncer/testículo, antígeno NY-ESO-1 de cáncer/testículo autoinmunogénico, antígeno de cáncer 3, antígeno 6.1 de cáncer/testículo, Carcinoma escamocelular esofágico 1 de Nueva York, miembro 2 de la familia de antígeno L, LAGE2, CT6.1, LAGE2A; GenBank: AAI30365.1); NY-BR-1 (ANKRD30A, dominio de repetición de anquirina 30A, antígeno de cáncer de mama NY-BR-1, antígeno NY-BR-1 de cáncer de mama serológicamente definido, proteína 30A que contiene dominio de repetición de anquirina; referencia de secuencia del NCBI: NP_443723.2); N-ras (NRAS, homólogo de oncogén vírico RAS (V-Ras) de neuroblastoma, NRAS1, proteína N-Ras transformante, GTPasa NRas, ALPS4, parte 4 de proteína N-Ras, NS6, homólogo de oncogén, HRAS1; GenBank: AAH05219.1); NFYC (factor de transcripción nuclear Y, Gamma, HAP5, HSM, factor de transcripción nuclear Y subunidad C, Transactivador HSM-1/2, subunidad C de factor de unión a CCAAT, NF-YC, subunidad gamma de unión a factor de transcripción CCAAT, subunidad C de proteína de unión a ADN de caja de CAAT, subunidad 2A grande de factor de transcripción H1 de histonas, CBFC, factor de transcripción nuclear Y subunidad gamma, CBF-C, Transactivador HSM-1, H1TF2A, factor de transcripción NF-Y, subunidad C; neo-PAP (PAPOLG, Poli(A) polimerasa gamma, Neo-poli(A) polimerasa, Poli(A) polimerasa gamma nuclear, polinucleótido adenililtransferasa gamma, enzima de adenilación 3' de ARN SRP/Pap2, PAP-gamma, Neo-PAP, enzima de adenilación 3' de ARN SRP, PAP2, EC 2.7.7.19, PAPG; referencia de secuencia del NCBI: NP_075045.2); NCA (CEACAM6, n.º de referencia de GenBank M1872); Napi3b (NAPI-3B, NPTIIB, SLC34A2, familia de transportadores de soluto 34 (fosfato de sodio), miembro 2, transportador 3b de fosfato dependiente de sodio de tipo II, n.º de referencia de GenBank NM_00642); Clase I de miosina; MUM-3; MUM-2 (TRAPPC1, complejo 1 de tráfico de partículas de proteína, BET5, homólogo de BET5, MUM2, mutada 2 ubicada en melanoma, proteína 2 de mieloma múltiple, subunidad 1 de complejo de tráfico de partículas de proteína; MUM-1f; Mucina (MUC1, Mucina 1, asociada con la superficie celular, PEMT, PUM, CA 15-3, MCKD1, ADMCKD, enfermedad quística medular de riñón 1 (autosómica dominante), ADMCKD1, Mucina 1, Transmembrana, CD227, antígeno DF3 asociado a carcinoma de mama, MAM6, antígeno de cáncer 15-3, MCD, mucina asociada con carcinoma, MCKD, Krebs Von Den Lungen-6, MUC-1/SEC, mucina urinaria reactiva con cacahuete, MUC1/ZD, antígeno de membrana epitelial asociado a tumores, antígeno DF3, mucina asociada a tumores, episialina, EMA, antígeno H23, H23AG, Mucina-1, KL-6, mucina epitelial asociada a tumores, MUC-1, Episialina, PEM, antígeno CD227; UniProtKB/Swiss-Prot: P15941.3); MUC5AC (Mucina 5AC, oligomérica formadora de moco/gel, Mucina tranqueobronquial MUC5, TBM, Mucina 5, subtipos A y C, traqueobronquial/gástrica, leB, mucina gástrica, Mucina 5AC, pseudogen de oligomérica formadora de moco/gel, antígeno del grupo sanguíneo B de Lewis, LeB, glucoproteína principal de las vías respiratorias, MUC-5AC, Mucina-5

subtipo AC, Traqueobronquial; MUC1 (Mucina 1, asociada con la superficie celular, PEMT, PUM, CA 15-3, MCKD1, ADMCKD, enfermedad quística medular de riñón 1 (autosómica dominante), ADMCKD1, Mucina 1, Transmembrana, CD227, antígeno DF3 asociado a carcinoma de mama, MAM6, antígeno de cáncer 15-3, MCD, mucina asociada con carcinoma, MCKD, Krebs Von Den Lungen-6, MUC-1/SEC, mucina urinaria reactiva con cacahuete, MUC-1/X, mucina epitelial polimórfica, MUC1/ZD, antígeno de membrana epitelial asociado a tumores, antígeno DF3, mucina asociada a tumores, episialina, EMA, antígeno h23, H23AG, mucina-1, KL-6, mucina epitelial asociada a tumores, MUC-1, Episialina, PEM, antígeno CD227; MSG783 (RNF124, proteína teórica FLJ20315, n.º de referencia de GenBank NM-01776; MRP4 - isoforma 3 de proteína 4 asociada a la multirresistencia farmacológica, MOAT-B; MOATB [*Homo sapiens*]; referencia de secuencia del NCBI: NP_001288758.1; MPF (MPF, MSLN, SMR, factor potenciador de megacariocitos, mesotelina, n.º de referencia de GenBank NM_00582; MMP-7 (MMP7, matrilisina, MPSL1, matrina, metaloproteínasa de matriz 7 (matrilisina, uterina), matrilisina uterina, metaloproteínasa de matriz-7, EC 3.4.24.23, proteasa Pump-1, Matrina, metaloproteínasa uterina, PUMP1, MMP-7, EC 3.4.24, PUMP-1; GenBank: AAC37543.1); MMP-2 (MMP2, metalopeptidasa de matriz 2 (gelatinasa A, gelatinasa de 72kDa, colagenasa de tipo IV de 72kDa), MONA, CLG4A, metaloproteínasa de matriz 2 (Gelatinasa A, gelatinasa de 72kD, colagenasa de tipo IV de 72kD), CLG4, gelatinasa de 72kDa, colagenasa de tipo IV de 72kDa), metaloproteínasa de matriz-2, MMP-II, gelatinasa de 72 KDa, colagenasa de tipo IV-A, MMP-2, metaloproteínasa de matriz-II, TBE-1, gelatinasa de neutrófilos, EC 3.4.24.24, EC 3.4.24; GenBank: AAH02576.1); y Meloe.

Por ejemplo, en algunos casos, un anticuerpo anti-CD3 que tiene un primer dominio de unión que comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis regiones hipervariables (HVR) seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, tal como 40G5c, puede tener un segundo dominio de unión que se une a CD20. El segundo dominio de unión que se une a CD20 puede, por ejemplo, comprender al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis regiones hipervariables (HVR) seleccionadas entre (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162, como la poseída por el anticuerpo anti-CD20, 2H7.v16 (descrito en la Patente de los Estados Unidos n.º 7.799.900). En algunos casos, el segundo dominio de unión que se une a CD20 puede, por ejemplo, comprender (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de la secuencia de, SEQ ID NO: 266; (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) respecto de la secuencia de, SEQ ID NO: 267; o (c) un dominio VH como en (a) y un dominio VL como en (b), como la poseída por el anticuerpo anti-CD20, 2H7.v16 (descrito en la Patente de los Estados Unidos n.º 7.799.900).

En algunos aspectos de la divulgación, también pueden usarse anticuerpos biespecíficos para localizar agentes citotóxicos a células que expresan un antígeno tumoral, tal como un antígeno listado en la tabla 1 (por ejemplo, CD20, FcRH5, HER2, LYPD1, LY6G6D, PMEL17, LY6E, CD19, CD33, CD22, CD79A, CD79B, EDAR, GFRA1, MRP4, RET, Steap1 o TenB2). También pueden prepararse anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o como fragmentos de anticuerpo.

Las técnicas para producir anticuerpos multiespecíficos incluyen, pero sin limitación, coexpresión recombinante de dos pares de cadena pesada-cadena ligera de inmunoglobulina que tienen diferentes especificidades (véase Milstein y Cuello, Nature 305: 537 (1983)), el documento WO 93/08829 y Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)), y la modificación de "botón en ojal" (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º 5.731.168). La modificación de "botón en ojal" de anticuerpos multiespecíficos puede utilizarse para generar un primer brazo que contiene un botón y un segundo brazo que contiene el ojal en el que puede unirse el botón del primer brazo. El botón de los anticuerpos multiespecíficos de la invención puede encontrarse en un brazo de anti-CD3 en una realización. Como alternativa, el botón de los anticuerpos multiespecíficos de la invención puede encontrarse en un brazo de anti-diana/antígeno en una realización. El ojal de los anticuerpos multiespecíficos de la invención puede encontrarse en un brazo de anti-diana/antígeno en una realización. También pueden diseñarse anticuerpos multiespecíficos usando la tecnología de sobrecruzamiento de inmunoglobulinas (también conocido como intercambio de dominio Fab o formato CrossMab) (véase, por ejemplo, el documento WO2009/080253; Schaefer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108:11187-11192 (2011)). También pueden producirse anticuerpos multiespecíficos diseñando efectos de direccionamiento electrostático para producir moléculas heterodiméricas de anticuerpo Fc (documento WO 2009/089004A1); sobrecruzando dos o más anticuerpos o fragmentos (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º 4.676.980 y Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); usando cremalleras de leucina para producir anticuerpos biespecíficos (véase, por ejemplo, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); usando la tecnología de "diacuerpo" para producir fragmentos de anticuerpo (véase, por ejemplo, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); y usando dímeros de Fv monocatenario (sFv) (véase, por ejemplo, Gruber et

al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); y preparando anticuerpos trispecíficos, como se describe, por ejemplo, en Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

Los anticuerpos modificados con tres o más sitios de unión a antígeno funcionales, incluyendo "anticuerpos Octopus", también se incluyen en el presente documento (véase, por ejemplo, el documento US 2006/0025576A1).

Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo de los mismos, también pueden incluir un "Fab de acción dual" o "DAF", que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a CD3 así como a otro antígeno diferente (por ejemplo, una segunda molécula biológica) (véase, por ejemplo, el documento US 2008/0069820).

7. Variantes de anticuerpos

En determinados aspectos de la divulgación, se contemplan variantes de secuencia de aminoácidos de los anticuerpos anti-CD3 de la invención (por ejemplo, anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y a una segunda molécula biológica, por ejemplo, un antígeno de la superficie celular, por ejemplo, un antígeno tumoral, tal como anticuerpos TDB de la invención o variantes de los mismos). Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo. Pueden prepararse variantes de secuencia de aminoácidos de un anticuerpo mediante la introducción de modificaciones adecuadas en la secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o mediante síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, eliminaciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de restos dentro de las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Puede prepararse cualquier combinación de eliminación, inserción y sustitución para obtener la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas, por ejemplo, unión a antígeno.

a. Variantes de sustitución, inserción y eliminación

En determinados aspectos de la divulgación, se proporcionan variantes de anticuerpos que tienen una o más sustituciones de aminoácidos. Los sitios de interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las HVR y las FR. En la tabla 2 se muestran sustituciones conservativas bajo el encabezado "sustituciones preferidas". Se proporcionan cambios más sustanciales en la tabla 2 bajo el encabezado "sustituciones a modo de ejemplo", y como se describen más adelante en referencia a las clases de las cadenas laterales de aminoácidos. Pueden introducirse sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de interés y los productos pueden someterse a detección sistemática respecto de una actividad deseada, por ejemplo, unión a antígeno conservada/mejorada, inmunogenicidad reducida o ADCC o CDC mejorada.

TABLA 2. Sustituciones de aminoácidos a modo de ejemplo y preferidas

Resto original	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina	Leu

Los aminoácidos pueden agruparse de acuerdo con las propiedades comunes de la cadena lateral:

- (1) hidrófobos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;

- (4) básicos: His, Lys, Arg;
- (5) restos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro;
- (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

5 Las sustituciones no conservativas implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

Un tipo particular de variante de sustitución implica sustituir uno o más restos de la región hipervariable de un anticuerpo precursor (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado). En general, las variantes resultantes seleccionadas para su estudio posterior tendrán modificaciones (por ejemplo, mejoras) en determinadas propiedades biológicas (por ejemplo, afinidad mejorada, inmunogenicidad reducida) en relación con el anticuerpo precursor y/o tendrán determinadas propiedades biológicas conservadas del anticuerpo precursor. Una variante sustitucional a modo de ejemplo es un anticuerpo madurado por afinidad, que puede generarse de manera conveniente, por ejemplo, usando técnicas de maduración por afinidad basadas en presentación de fagos, tales como aquellas descritas en el presente documento. En resumen, se mutan uno o más restos de HVR y los anticuerpos variantes se presentan sobre fagos y se someten a detección sistemática de una actividad biológica particular (por ejemplo, afinidad de unión).

Pueden efectuarse alteraciones (por ejemplo, sustituciones) en las HVR, por ejemplo, para mejorar la afinidad del anticuerpo. Dichas alteraciones pueden efectuarse en "puntos calientes" de la HVR, es decir, restos codificados por codones que sufren mutación con elevada frecuencia durante el proceso de maduración somática (véase, por ejemplo, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)) y/o restos que entran en contacto con el antígeno, evaluándose la afinidad de unión de la VH o VL variante resultante. La maduración por afinidad mediante la construcción y reselección de bibliotecas secundarias se ha descrito, por ejemplo, en Hoogenboom et al. en Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). En algunos aspectos de la maduración por afinidad, se introduce diversidad en los genes variables seleccionados para su maduración mediante cualquiera de diversos métodos (por ejemplo, PCR propensa a errores, reordenamiento de cadenas o mutagénesis dirigida por oligonucleótidos). Después, se crea una biblioteca secundaria. Posteriormente, se somete la biblioteca a detección sistemática para identificar cualquier variante de anticuerpo con la afinidad deseada. Otro método para introducir diversidad implica estrategias dirigidas a las HVR, en las que se aleatorizan varios restos de HVR (por ejemplo, 4-6 restos a la vez). Pueden identificarse específicamente restos de HVR implicados en la unión al antígeno, por ejemplo, usando mutagénesis o modelado de barrido de alanina. Normalmente se usan como diana, en particular, CDR-H3 y CDR-L3.

En determinados aspectos de la divulgación, pueden producirse sustituciones, inserciones o eliminaciones en una o más HVR en tanto que dichas alteraciones no reduzcan sustancialmente la capacidad del anticuerpo para unirse al antígeno. Por ejemplo, pueden efectuarse alteraciones conservativas (por ejemplo, sustituciones conservativas, tal como se proporcionan en el presente documento) que no reduzcan sustancialmente la afinidad de unión en las HVR. Por ejemplo, dichas alteraciones pueden encontrarse fuera de los restos de contacto con el antígeno en las HVR. En ciertos aspectos de la divulgación de las secuencias de VH y VL variantes proporcionadas anteriormente, cada HVR está o bien no alterada o contiene más de una, dos o tres sustituciones de aminoácidos.

Un método útil para la identificación de restos o regiones de un anticuerpo que pueden usarse como diana para mutagénesis se denomina "mutagénesis por barrido de alanina" como se describe por Cunningham y Wells (1989) Science, 244:1081-1085. En este método, se identifica un resto o un grupo de restos diana (por ejemplo, restos cargados, tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) y se reemplaza por un aminoácido neutro o cargado negativamente (por ejemplo, alanina o polialanina) para determinar si se ve afectada la interacción del anticuerpo con el antígeno. Pueden introducirse sustituciones adicionales en las ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones iniciales. Como alternativa o además, puede usarse una estructura cristalina de un complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos restos de contacto y restos vecinos pueden usarse como diana o eliminarse como candidatos para sustitución. Las variantes pueden someterse a detección sistemática para determinar si contienen las propiedades deseadas.

Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxilo terminales que varían en su longitud, desde un resto hasta polipéptidos que contienen cien o más restos, así como inserciones intrasecuencia de restos de aminoácidos individuales o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un resto de metionilo N-terminal. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión al extremo N o C-terminal del anticuerpo de una enzima (por ejemplo, para ADEPT) o un polipéptido que aumenta la semivida en suero del anticuerpo.

b. Variantes de glucosilación

En ciertas realizaciones de la divulgación, los anticuerpos anti-CD3 de la invención (por ejemplo, anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y a una segunda molécula biológica, por ejemplo, un antígeno de la superficie celular, por ejemplo, un antígeno tumoral, tales como los anticuerpos TDB de la invención) pueden alterarse para aumentar o reducir el alcance de glucosilación del anticuerpo. La adición o eliminación de sitios de glucosilación a un anticuerpo anti-CD3 de la invención puede lograrse convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos, de tal forma que se crean o eliminan uno o más sitios de glucosilación.

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, puede alterarse el carbohidrato unido a esta. Los anticuerpos naturales producidos por células de mamífero comprenden normalmente un oligosacárido ramificado biantenarico que está unido generalmente mediante un enlace N al Asn297 del dominio CH2 de la región Fc. Véase, por ejemplo, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). El oligosacárido puede incluir varios carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetil glucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, así como fucosa unida a un GlcNAc en el "tallo" de la estructura de oligosacárido biantenaria. En algunas realizaciones, pueden efectuarse modificaciones del oligosacárido en un anticuerpo de la invención a fin de crear variantes de anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas.

En una realización de la divulgación, se proporcionan variantes de anticuerpo anti-CD3 que tienen una estructura de carbohidratos que carece de fucosa unida (directa o indirectamente) a una región Fc. Por ejemplo, la cantidad de fucosa en dicho anticuerpo puede ser del 1 % al 80 %, del 1 % al 65 %, del 5 % al 65 % o del 20 % al 40 %. La cantidad de fucosa se determina calculando la cantidad promedio de fucosa dentro de la cadena de azúcar en Asn297, en relación con la suma de todas las glucoestructuras acopladas a un Asn 297 (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y ricas en manosa) medidas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF, como se describe en el documento WO 2008/077546, por ejemplo. Asn297 se refiere al resto de asparagina ubicado aproximadamente en la posición 297 en la región Fc (numeración de EU de los restos de la región Fc); sin embargo, Asn297 también puede estar ubicado a aproximadamente ± 3 aminoácidos cadena arriba o cadena abajo de la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a variaciones de secuencia menores en los anticuerpos. Dichas variantes de fucosilación pueden tener una función de ADCC mejorada. Véanse, por ejemplo, las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos n.º US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Los ejemplos de publicaciones relacionadas con variantes de anticuerpos "desfucosilados" o "deficientes en fucosa" incluyen: el documento US 2003/0157108; el documento WO 2000/61739; el documento WO 2001/29246; el documento US 2003/0115614; el documento US 2002/0164328; el documento US 2004/0093621; el documento US 2004/0132140; el documento US 2004/0110704; el documento US 2004/0110282; el documento US 2004/0109865; el documento WO 2003/085119; el documento WO 2003/084570; el documento WO 2005/035586; el documento WO 2005/035778; el documento WO2005/053742; el documento WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Los ejemplos de líneas celulares capaces de producir anticuerpos desfucosilados incluyen células Lec13 CHO deficientes en la fucosilación de proteínas (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º 2003/0157108 A1, Presta, L; y el documento WO 2004/056312 A1, Adams et al., especialmente en el ejemplo 11) y líneas celulares con supresión génica, tal como para el gen de la alfa-1,6-fucosiltransferasa, *FUT8*, células CHO con supresión génica (véase, por ejemplo, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); y el documento WO2003/085107).

Además, se proporcionan variantes de anticuerpos anti-CD3 con oligosacáridos bisectados, por ejemplo, en las que se biseca un oligosacárido biantenarico unido a la región Fc del anticuerpo mediante GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener una fucosilación reducida y/o una función de ADCC mejorada. Se describen ejemplos de dichas variantes de anticuerpo, por ejemplo, en el documento WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); la patente de los Estados Unidos n.º 6.602.684 (Umana et al.); y el documento US 2005/0123546 (Umana et al.). También se proporcionan variantes de anticuerpo con al menos un resto de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener función CDC mejorada. Dichas variantes de anticuerpo se describen, por ejemplo, en el documento WO 1997/30087 (Patel et al.); el documento WO 1998/58964 (Raju, S.); y el documento WO 1999/22764 (Raju, S.).

c. Variantes de región Fc

En ciertas realizaciones, pueden introducirse una o más modificaciones de aminoácidos en la región Fc de un anticuerpo anti-CD3 de la invención (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD3 anti-CD20 biespecífico de la invención que se une a CD3 y a CD20, tal como un anticuerpo TDB de la invención o una variante del mismo), generando de este modo una variante de región Fc (véase, por ejemplo, el documento US 2012/0251531). La variante de la región Fc puede comprender una secuencia de región Fc humana (por ejemplo, una región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana) que comprende una modificación de aminoácido (por ejemplo, una sustitución) en una o más posiciones de aminoácidos.

En ciertas realizaciones, la invención contempla una variante de anticuerpo anti-CD3 anti-CD20 biespecífico que posee algunas pero no todas las funciones efectoras, que la hacen un candidato deseable para aplicaciones en las que es importante la semivida del anticuerpo in vivo mientras que ciertas funciones efectoras (tales como complemento y ADCC) son innecesarias o perjudiciales. Pueden llevarse a cabo ensayos de citotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* para confirmar la reducción/eliminación de las actividades de CDC y/o ADCC. Por ejemplo, pueden llevarse a cabo ensayos a receptor de Fc (FcR) para asegurarse de que el anticuerpo carece de actividad de unión a FcγR (por tanto, careciendo probablemente de actividad ADCC), pero conserva la capacidad de unión a FcRn. Las células primarias para mediar en la ADCC, células NK, expresan únicamente Fc(RIII), mientras que los monocitos expresan Fc(RI, Fc(RII y Fc(RIII). La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la tabla 3 en la página 464 de Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991). Se describen ejemplos no limitantes de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad ADCC de una molécula de interés en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.500.362 (véase, por ejemplo,

Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) y Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5.821.337 (véase Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)). Como alternativa, pueden emplearse métodos de ensayo no radiactivos (véase, por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad no radiactivo ACT1™ para citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, California; y el ensayo de citotoxicidad no radiactivo CytoTox 96® (Promega, Madison, WI). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y linfocitos citolíticos naturales (NK). Como alternativa o además, la actividad de ADCC de la molécula de interés puede determinarse *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal, como se divulga en Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998). Pueden llevarse a cabo ensayos de unión a C1q para confirmar que el anticuerpo es incapaz de unirse a C1q y por tanto, carece de actividad CDC. Véanse, por ejemplo, los ELISA de unión a C1q y C3c en los documentos WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación de complemento, puede llevarse a cabo un ensayo de CDC (véase, por ejemplo, Gazzano-Santoro et al. J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al. Blood. 101:1045-1052 (2003); y Cragg, M.S. y M.J. Glennie Blood. 103:2738-2743 (2004)). También pueden llevarse a cabo determinaciones de unión a FcRn y de eliminación/semivida *in vivo* también puede llevarse a cabo usando métodos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Petkova, S.B. et al. Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)).

Los anticuerpos con función efectora reducida incluyen aquellos con la sustitución de uno o más de los restos de la región Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (Patentes de los Estados Unidos n.º 6.737.056 y 8.219.149). Dichos mutantes de Fc incluyen mutantes de Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácidos 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el mutante de Fc denominado "DANA" con sustitución de los restos 265 y 297 por alanina (Patentes de los Estados Unidos n.º 7.332.581 y 8.219.149).

En ciertas realizaciones, la prolina en la posición 329 de una región Fc humana de tipo silvestre en el anticuerpo se sustituye por glicina o arginina o un resto de aminoácido lo suficientemente grande para destruir el sándwich de prolina entre la interfaz de Fc/Fc gamma que se forma entre la prolina 329 del Fc y los restos de triptófano Trp 87 y Trp 110 de FcγRIII (Sondermann et al.: Nature 406, 267-273 (20 de julio de 2000)). En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende al menos una sustitución de aminoácidos adicional. En una realización, la sustitución de aminoácidos adicional es S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S y en otra realización más, la al menos una sustitución de aminoácidos adicional es L234A y L235A de la región Fc de IgG1 humana o S228P y L235E de la región Fc de IgG4 humana (véase, por ejemplo, el documento US 2012/0251531) y en otra realización más, la al menos una sustitución de aminoácidos adicional es L234A y L235A y P329G de la región Fc de IgG1 humana.

Se describen determinadas variantes de anticuerpo con unión mejorada o reducida a FcR. (Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º 6.737.056; el documento WO 2004/056312 y Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)).

En ciertas realizaciones, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran la ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración de EU de los restos).

En algunas realizaciones, se efectúan alteraciones en la región Fc que dan como resultado una alteración (es decir, mejora o reducción) de la unión a C1q y/o la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), por ejemplo, como se describe en la Patente de los Estados Unidos n.º 6.194.551, el documento WO 99/51642 e Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

Los anticuerpos con semividas aumentadas y unión mejorada al receptor Fc neonatal (FcRn), que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) y Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), se describen en el documento US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Dichos anticuerpos comprenden una región Fc con una o más sustituciones en la misma que mejoran la unión de la región Fc a FcRn. Dichas variantes de Fc incluyen aquellas que tienen sustituciones en uno o más de los siguientes restos de la región Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 o 434, por ejemplo, la sustitución del resto 434 de la región Fc (Patente de los Estados Unidos n.º 7.371.826).

Véase también Duncan y Winter, Nature 322:738-40 (1988); la Patente de los Estados Unidos n.º 5.648.260; la Patente de los Estados Unidos n.º 5.624.821; y el documento WO 94/29351 que se refieren a otros ejemplos de variantes en la región Fc.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD3 biespecífico comprende una región Fc que comprende una mutación N297G. En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 que comprende la mutación N297G comprende un brazo de anti-CD3 que comprende un primer dominio de unión que comprende las seis HVR a continuación: (a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; (b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; (c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; (d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; (e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y (f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende las seis HVR a continuación: (a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 157; (b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158; (c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159; (d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160; (e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; y (f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162.

En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 que comprende la mutación N297G comprende un brazo anti-CD3 que comprende un primer dominio que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185 y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267.

En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 que comprende la mutación N297G comprende uno o más dominios constantes de cadena pesada, en donde los uno o más dominios constantes de cadena pesada se seleccionan entre un primer dominio CH1 (CH1₁), un primer dominio CH2 (CH2₁), un primer dominio CH3 (CH3₁), un segundo dominio CH1 (CH1₂), un segundo dominio CH2 (CH2₂) y un segundo dominio CH3 (CH3₂). En algunos casos, al menos uno de los uno o más dominios constantes de cadena pesada se empareja con otro dominio constante de cadena pesada. En algunos casos, cada uno de los dominios CH3₁ y CH3₂ comprenden una protuberancia o cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH3₁ puede posicionarse en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH3₂. En algunos casos, los dominios CH3₁ y CH3₂ se encuentran en una interfaz entre dicha protuberancia y cavidad. En algunos casos, cada uno de los dominios CH2₁ y CH2₂ comprenden una protuberancia o cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH2₁ puede posicionarse en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH2₂. En otros casos, los dominios CH2₁ y CH2₂ se encuentran en una interfaz entre dicha protuberancia y cavidad. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 es un anticuerpo IgG1.

En otras realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 que comprende la mutación N297G comprende un brazo anti-CD3 que comprende un primer dominio que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185 y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267, en donde (a) el brazo anti-CD3 comprende las mutaciones de sustitución T366S, L368A, Y407V y N297G y (b) el brazo anti-CD20 comprende las mutaciones de sustitución T366W y N297G.

d. Variantes de anticuerpo modificadas con cisteína

En ciertas realizaciones de la divulgación, puede ser deseable crear anticuerpos modificados con cisteína, por ejemplo, "tioMAb", en los que se sustituyen uno o más restos de un anticuerpo por restos de cisteína. En realizaciones particulares, los restos sustituidos se producen en sitios accesibles del anticuerpo. Mediante la sustitución de esos restos con cisteína, los grupos tiol reactivos se colocan por tanto en sitios accesibles del anticuerpo y se pueden utilizar para conjugar el anticuerpo con otros restos, tales como restos de fármacos o enlazadores-restos de fármaco, para crear un inmunocóncugado, como se describe adicionalmente en el presente documento. En ciertas realizaciones, puede sustituirse uno cualquiera o más de los siguientes restos por cisteína: V205 (numeración de Kabat) de la cadena ligera; A118 (numeración de EU) de la cadena pesada; y S400 (numeración de EU) de la región Fc de la cadena pesada. Pueden generarse anticuerpos modificados con cisteína como se describe, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos n.º 7.521.541.

e. Derivados de anticuerpos

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención que se une a CD3 y a CD20, tal como un anticuerpo TDB de la invención, puede modificarse adicionalmente para que contenga restos no proteicos adicionales que se conocen en la técnica y se encuentran fácilmente disponibles. Los restos adecuados para la derivatización del anticuerpo incluyen, pero sin limitación, polímeros hidrosolubles. Los ejemplos no limitantes de polímeros hidrosolubles incluyen, pero sin limitación, polietilenglicol (PEG), copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poli-1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (homopolímeros o copolímeros aleatorios) y dextrano o poli (n-vinilpirrolidona) polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de prolipropileno/óxido de etileno, polioles polioxiethylados (por ejemplo, glicerol), alcohol polivinílico y mezclas de los mismos. El propionaldehído de polietilenglicol puede tener ventajas en la fabricación debido a su estabilidad en agua. El polímero puede tener cualquier peso molecular y puede ser ramificado o no ramificado. La cantidad de polímeros unidos al anticuerpo puede variar y si se une más de un polímero, pueden ser moléculas iguales o diferentes. En general, el número y/o tipo de polímeros usados para la derivatización se puede determinar basándose en consideraciones que incluyen, pero sin limitación, las propiedades o funciones particulares del anticuerpo a mejorar, si el derivado de anticuerpo se usará en una terapia en condiciones definidas, etc.

En otra realización, se proporcionan conjugados de un anticuerpo y un resto no proteico que pueden calentarse selectivamente por exposición a radiación. En una realización, el resto no proteico es un nanotubo de carbono (Kam

et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). La radiación puede ser de cualquier longitud de onda e incluye, pero sin limitación, longitudes de onda que no dañan a las células ordinarias, pero que calientan el resto no proteico a una temperatura a la que las mueren células proximales al anticuerpo-resto no proteico.

5 B. Métodos y composiciones recombinantes

Los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y CD20, tales como los anticuerpos TDB de la invención pueden producirse usando métodos y composiciones recombinantes, por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.816.567. En una realización, se proporciona un ácido nucleico aislado que
10 codifica un anticuerpo anti-CD3 descrito en el presente documento. Dicho ácido nucleico puede codificar una secuencia de aminoácidos que comprenda el VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprenda el VH del anticuerpo (por ejemplo, las cadenas ligera y/o pesada del anticuerpo). En una realización adicional, se proporcionan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden dicho ácido nucleico. En una realización
15 adicional, se proporciona una célula hospedadora que comprende dicho ácido nucleico. En una de dichas realizaciones, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, se ha transformado con): (1) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VL del anticuerpo y una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VL del anticuerpo y un segundo vector que comprende un
20 ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo. En una realización, la célula hospedadora es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o una célula linfóide (por ejemplo, una célula Y0, NS0, Sp20). En una realización, se proporciona un método para producir un anticuerpo anti-CD3, en donde el método comprende cultivar una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico que codifica el anticuerpo, según lo dispuesto anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo y opcionalmente, recuperar el anticuerpo de la célula hospedadora (o del medio de cultivo de la célula hospedadora).

Para la producción recombinante de un anticuerpo anti-CD3, el ácido nucleico que codifica un anticuerpo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, se aísla e inserta en uno o más vectores para la clonación y/o expresión adicional en una célula hospedadora. Dicho ácido nucleico puede aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas que son capaces de unirse específicamente a genes
30 que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo).

Las células hospedadoras adecuadas para la clonación o expresión de los vectores que codifican anticuerpos incluyen células procariotas o eucariotas descritas en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos pueden producirse en bacterias, en particular, cuando no se necesitan glucosilación y función efectora de Fc. Para la expresión de
35 fragmentos de anticuerpo y polipéptidos en bacterias, véase, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.648.237, 5.789.199 y 5.840.523. (Véase también Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), págs. 245-254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpo en *E. coli*). Después de la expresión, el anticuerpo puede aislarse de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y puede purificarse adicionalmente.

Además de procariotas, los microbios eucariotas, tales como hongos filamentosos o levaduras, son hospedadores de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos, incluyendo cepas de hongos y levaduras cuyas vías de glucosilación se han "humanizado", lo que da como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano. Véase Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004) y Li
45 et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

Las células hospedadoras adecuadas para la expresión de anticuerpo glucosilado también proceden de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas baculovíricas que pueden usarse en conjunción con células de insecto,
50 en particular para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

También pueden utilizarse cultivos de células vegetales como hospedadores. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 y 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas).

Las células de vertebrado también pueden usarse como hospedadoras. Por ejemplo, pueden ser útiles células de mamífero que están adaptadas para crecer en suspensión. Otros ejemplos de células de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada mediante SV40 (COS-7); la línea de riñón embrionario humano (293 o células 293, como se describen, por ejemplo, en Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); células de riñón de cría de hámster (BHK); células de Sertoli de ratón (células TM4, como se describen, por ejemplo, en Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células de carcinoma de cuello de útero humano (HELA); células de riñón canino (MDCK); células de hígado de rata búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumor de mama de ratón (MMT 060562); células TRI, como se describe, por ejemplo, en Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982); células MCR 5; y
65 células FS4. Otras líneas celulares de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células CHO DHFR⁻ (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); y líneas celulares de mieloma, tales

como Y0, NSO y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas celulares de mamífero hospedadoras adecuadas para la producción de anticuerpos, véase, por ejemplo, Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), págs. 255-268 (2003).

5 C. Ensayos

Los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y CD20, tales como los anticuerpos TDB de la invención proporcionados en el presente documento pueden identificarse, someterse a detección sistemática o caracterizarse respecto de sus propiedades fisicoquímicas y/o sus actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos en la técnica.

1. Ensayos de unión y otros ensayos

En un aspecto de la divulgación, se evalúa la actividad de unión a antígeno de un anticuerpo anti-CD3 de la invención, por ejemplo, mediante métodos conocidos, tales como ELISA, transferencia de Western, etc.

En otro aspecto de la divulgación, pueden usarse ensayos de competición para identificar un anticuerpo que compite con un anticuerpo anti-CD3 de la invención por la unión a CD3.

En un ensayo de competición a modo de ejemplo, se incuba CD3 inmovilizado en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une a CD3 y un segundo anticuerpo no marcado que se está evaluando respecto de su capacidad para competir con el primer anticuerpo por la unión a CD3. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incuba CD3 inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado, pero no el segundo anticuerpo marcado. Después de la incubación en condiciones que permitan la unión del primer anticuerpo a CD3, se retira el exceso de anticuerpo no unido y se mide la cantidad de marcador asociado a CD3 inmovilizado. En caso de que la cantidad de marcador asociado a CD3 inmovilizado se reduzca sustancialmente en la muestra de ensayo en relación con la muestra de control, esto indica que el segundo anticuerpo compite con el primer anticuerpo por la unión a CD3. Véanse, por ejemplo, Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Ensayos de actividad

En un aspecto de la divulgación, se proporcionan ensayos para identificar anticuerpos anti-CD3 que tienen actividad biológica. La actividad biológica puede incluir, por ejemplo, unión a CD3 (por ejemplo, CD3 en la superficie de un linfocito T) o un fragmento peptídico del mismo, ya sea *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*. En el caso de un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, biespecífico) anti-CD3 de la invención (por ejemplo, un anticuerpo TDB que tiene un brazo anti-CD3 y un brazo que reconoce a una segunda molécula biológica, por ejemplo, un antígeno de la superficie celular, por ejemplo, un antígeno tumoral), la actividad biológica también puede incluir, por ejemplo, la activación de células efectoras (por ejemplo, activación de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CD8+ y/o CD4+)), expansión de la población de células efectoras (es decir, un aumento en el recuento de linfocitos T), reducción de la población de células diana (es decir, una reducción en la población de células que expresan la segunda molécula biológica en sus superficies celulares) y/o eliminación de células diana. Se proporcionan anticuerpos que tienen dicha actividad biológica *in vivo* y/o *in vitro*. En ciertas realizaciones, se evalúa dicha actividad biológica en un anticuerpo de la invención, como se describe detalladamente en los ejemplos más adelante en el presente documento.

En algunas realizaciones de la divulgación, la actividad comprende la capacidad de soportar la eliminación de linfocitos B y/o la activación de los linfocitos T citotóxicos. En ciertas realizaciones de la divulgación, se evalúa dicha eliminación de linfocitos B y/o la activación del efecto citotóxico de la actividad biológica de linfocitos T por un anticuerpo anti-CD3 dirigido contra linfocitos B de la invención (tal como un TDB anti-CD20) mediante cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunas realizaciones de la divulgación de cualquiera de estos ensayos de actividad, pueden aislarse PBMC de sangre completa de donantes sanos mediante separación con Ficoll. En particular, puede recogerse sangre humana en jeringas heparinizadas y las PBMC se aíslan usando Leucosep y Ficoll Paque Plus. En caso necesario, pueden separarse linfocitos T CD4+ y T CD8+ con kits de Miltenyi de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Además, las células pueden lavarse en medio RPMI que contiene FBS al 10 %, suplementado con GlutaMax, penicilina y estreptomina y se añaden ~0,2 millones de células en suspensión a una placa de fondo en U de 96 pocillos. Las células pueden cultivarse en RPMI1640 suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una estufa de incubación para cultivo celular convencional humidificada. Para los ensayos de eliminación de células BJAB, pueden incubarse 20.000 células BJAB con células efectoras, ya sean como huPBMC o linfocitos T purificados, a las relaciones indicadas por el ensayo, en presencia de diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante 24 horas. Para los ensayos de eliminación de linfocitos B endógenos, pueden incubarse 200.000 huPBMC con diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante 24 horas.

Después del cultivo, las células pueden lavarse con tampón de FACS (BSA al 0,5 %, azida de Na al 0,05 % en PBS). Después, las células pueden teñirse en tampón de FACS, lavarse con tampón de FACS y suspenderse en 100 µl de

tampón de FACS que contiene 1 µg/ml de yoduro de propidio. Pueden recogerse datos en un citómetro de flujo FACSCalibur y analizarse usando FlowJo. Los linfocitos B vivos pueden seleccionarse como linfocitos B PI-CD19+ o PI-CD20+ mediante FACS y puede obtenerse el recuento absoluto con perlas de FITC añadidas a la mezcla de reacción como control interno de recuento. Puede calcularse el porcentaje (%) de eliminación celular basándose en los controles no tratados con TDB. Los linfocitos T activados pueden detectarse mediante la expresión superficial de CD69 y CD25 usando anti-CD69-FITC y anti-CD25-PE.

D. Inmunoconjugados

La invención también proporciona inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-CD3 de la invención conjugado a uno o más agentes citotóxicos, tales como agentes o fármacos quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, toxinas proteicas, toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal o fragmentos de las mismas) o isótopos radiactivos.

En una realización, un inmunoconjugado es un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) en el que se conjuga un anticuerpo a uno o más fármacos, incluyendo, pero sin limitación, un maitansinoide (véanse las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.208.020, 5.416.064 y la Patente Europea EP 0 425 235 B1); una auristatina, tales como los restos DE y DF de monometilauristatina (MMAE y MMAF) (véanse las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.635.483 y 5.780.588 y 7.498.298); una dolastatina; una calicheamicina (véanse las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001 y 5.877.296; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); y Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)); una antraciclina, tal como daunomicina o doxorubicina (véase Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); y la Patente de los Estados Unidos n.º 6.630.579); metotrexato; vindesina; un taxano, tal como docetaxel, paclitaxel, larotaxel, tesetaxel y ortataxel; un tricoteceno; y CC1065.

En otra realización, un inmunoconjugado comprende un anticuerpo anti-CD3 de la invención conjugado a una toxina enzimáticamente activa o un fragmento de la misma, incluyendo, pero sin limitación, cadena A de difteria, fragmentos activos sin unión de toxina de la difteria, cadena A de la exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), la cadena A de ricina, la cadena A de abrina, la cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAPS), el inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crocina, el inhibidor de *Sapaonaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos.

En otra realización, un inmunoconjugado comprende un anticuerpo anti-CD3 de la invención conjugado a un átomo radiactivo para formar un radioconjugado. Se encuentra disponible varios isótopos radiactivos para la producción de radioconjugados. Los ejemplos incluyen At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² e isótopos radioactivos de Lu. Cuando el radioconjugado se usa para detección, puede comprender un átomo radiactivo para estudios de centellografía, por ejemplo, tc99m o I123 o un marcador de spin para obtención de imágenes por resonancia magnética nuclear (RMN) (también conocida como obtención de imágenes por resonancia magnética, IRM), tales como nuevamente, yodo-123, yodo-131, indio-111, flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro.

Pueden prepararse conjugados de un anticuerpo y un agente citotóxico usando varios agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales tales como N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato (SPDP), succinimidil-4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidioésteres (tales como dimetil adipimidato HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos de bis-azido (tales como bis (p-azidobenzil) hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como 2,6-diisocianato de tolueno) y compuestos de bis-fluorina activa (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina tal como se describe en Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). El ácido 1-isotiocianatobenzil-3-metildietileno triaminopentaacético (MX-DTPA) marcado con carbono-14 es un agente quelante a modo de ejemplo para la conjugación del radionucleótido con el anticuerpo. Véase el documento WO94/11026. El enlazador puede ser un "enlazador escindible" que facilita la liberación de un fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, puede usarse un enlazador lábil por ácido, enlazador sensible a peptidasa, enlazador fotolábil, enlazador de dimetilo o enlazador que contiene disulfuro (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); Patente de los Estados Unidos n.º 5.208.020).

Los inmunoconjugados o ADC del presente documento contemplan expresamente, pero sin limitación, dichos conjugados preparados con reactivos reticulantes que incluyen, pero sin limitación, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC y sulfo-SMPB y SVSB (succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato) que se encuentran disponibles comercialmente (por ejemplo, de Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., EE. UU.).

E. Métodos y composiciones para diagnósticos y detección

En ciertas realizaciones, los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y a CD20, tales como anticuerpos TDB de la invención, son útiles para detectar la presencia de CD3 en una muestra biológica. El término "detectar", como se usa en el presente documento, abarca la detección cuantitativa o cualitativa. En ciertas realizaciones, una muestra biológica comprende una célula o un tejido.

En un aspecto de la divulgación, se proporciona un anticuerpo anti-CD3 para su uso en un método de diagnóstico o detección. En un aspecto adicional de la divulgación, se proporciona un método para detectar la presencia de CD3 en una muestra biológica. En determinados aspectos, de la divulgación, el método comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo anti-CD3 como se describe en el presente documento en condiciones que permitan la unión del anticuerpo anti-CD3 a CD3 y detectar si se forma un complejo entre el anticuerpo anti-CD3 y CD3. Dicho método puede ser un método *in vitro* o *in vivo*.

En ciertas realizaciones de la divulgación, se proporcionan anticuerpos anti-CD3 marcados. Los marcadores incluyen, pero sin limitación, marcadores o restos que se detectan directamente (tal como marcadores fluorescentes, cromóforos, densos a electrones, quimioluminiscentes y radiactivos), así como restos, tales como enzimas o ligandos, que se detectan indirectamente, por ejemplo, mediante una reacción enzimática o interacción molecular. Los marcadores a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, los radioisótopos ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H y ^{131}I , fluoróforos, tales como quelatos de tierras raras o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, umbelliferona, luciferasas, por ejemplo, luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (Patente de los Estados Unidos n.º 4.737.456),

luciferina, 2,3-dihidroftalacinadionas, peroxidasa de rábano picante (HRP), fosfatasa alcalina, β -gactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas, por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, oxidasas heterocíclicas como uricasa y xantina oxidasa, acoplados con una enzima que emplea peróxido de hidrógeno para oxidar un precursor de colorante, tal como HRP, lactoperoxidasa o microperoxidasa, biotina/avidina, marcadores de espín, marcadores de bacteriófagos, radicales libres estables y similares.

F. Formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención que se une a CD3 y a CD20, tal como un anticuerpo TDB de la invención, se preparan mezclando dicho anticuerpo que tiene el grado de pureza deseado con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores farmacéuticamente aceptables normalmente son no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas e incluyen, pero sin limitación: tampones, tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencilico; alquil parabenos, tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG). Los portadores a modo de ejemplo farmacéuticamente aceptables en el presente documento incluyen adicionalmente agentes de dispersión de fármacos intersticiales, tales como glucoproteínas de hialuronidasa neutros-activos solubles (SHASEGP), por ejemplo, glucoproteínas de hialuronidasa PH-20 solubles humanas, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Determinados SHASEGP a modo de ejemplo y métodos de uso, incluyendo rHuPH20, se describen en las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos n.º 2005/0260186 y 2006/0104968. En un aspecto, se combina un SHASEGP con una o más glucosaminoglucanasas adicionales, tales como condroitinasas.

Las formulaciones de anticuerpo ilustrativas se describen en la Patente de los Estados Unidos n.º 6.267.958. Las formulaciones acuosas de anticuerpo incluyen aquellas descritas en la Patente de los Estados Unidos n.º 6.171.586 y en el documento WO2006/044908, incluyendo estas últimas formulaciones un tampón de histidina-acetato.

La formulación en el presente documento también puede contener más de un principio activo según sea necesario para la indicación particular que se esté tratando, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proporcionar adicionalmente un agente terapéutico adicional (por ejemplo, un agente quimioterápico, un agente citotóxico, un agente inhibidor del crecimiento y/o un agente antihormonal, tales como los citados anteriormente en el presente documento). Dichos principios activos están presentes de manera adecuada en combinaciones en cantidades que son eficaces para el fin previsto.

Los principios activos pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de administración de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en

macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en Remington's Pharmaceutical Sciences 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980).

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, teniendo dichas matrices una forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas.

Las formulaciones que se van a usar para la administración *in vivo* son, generalmente, estériles. Puede lograrse fácilmente la esterilidad, por ejemplo, mediante filtración a través de membranas de esterilización por filtración.

G. Métodos y composiciones terapéuticos

Cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y a CD20, tales como anticuerpos TDB de la invención, pueden ser para su uso en métodos terapéuticos.

En un aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD3 biespecífico para su uso como medicamento. En aspectos adicionales, se proporciona un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer) o un trastorno autoinmunitario (por ejemplo, artritis). En ciertas realizaciones, se proporciona un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención para su uso en un método de tratamiento. En ciertas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención para su uso en un método de tratamiento de un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD3. En una de dichas realizaciones, el método comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. En otras realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención se proporciona para su uso en la potenciación de la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención se proporciona para su uso en un método para potenciar la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD3 para activar células efectoras (por ejemplo, linfocitos T, por ejemplo, linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (aumentar) una población de células efectoras, reducir la población de células diana (por ejemplo, una célula que expresa CD20 reconocida por el anticuerpo TDB biespecífico de la invención) y/o eliminar una célula diana (por ejemplo, célula diana tumoral). Un "individuo" de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un ser humano.

En un aspecto adicional, la divulgación posibilita el uso de un anticuerpo anti-CD3 en la fabricación o preparación de un medicamento. En una realización de la divulgación, el medicamento es para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer) o un trastorno autoinmunitario (por ejemplo, artritis). En una realización más de la divulgación, el medicamento es para su uso en un método de tratamiento de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario que comprende administrar a un individuo que tenga un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario una cantidad eficaz del medicamento. En una realización de este tipo de la divulgación, el método comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. En una realización más de la divulgación, el medicamento es para activar células efectoras (por ejemplo, linfocitos T, por ejemplo, linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (aumentar) una población de células efectoras, reducir una población de células diana (por ejemplo, una célula que expresa una segunda molécula biológica reconocida por un anticuerpo anti-CD3 de la invención, tal como un anticuerpo TDB biespecífico de la invención) y/o eliminar células diana (por ejemplo, células tumorales diana) en el individuo. En una realización más de la divulgación, el medicamento es para su uso en un método para potenciar la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del medicamento para activar células efectoras (por ejemplo, linfocitos T, por ejemplo, linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (aumentar) una población de células efectoras, reducir una población de células diana (por ejemplo, una célula que expresa CD20 reconocida por el anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención) y/o eliminar una célula diana (por ejemplo, célula diana tumoral). Un "individuo" de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un ser humano.

En un aspecto adicional de la divulgación, la invención proporciona un método para tratar un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer) o un trastorno autoinmunitario (por ejemplo, artritis). En una realización de la divulgación, el método comprende administrar a un individuo que tiene dicho trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD3. En una realización de este tipo de la divulgación, el método comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. Un "individuo" de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un ser humano.

En un aspecto adicional, la divulgación proporciona un método para potenciar la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario. En una realización de la divulgación, el método comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD3 para activar células efectoras (por ejemplo, linfocitos T, por ejemplo, linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (aumentar) una población de

células efectoras, reducir una población de células diana (por ejemplo, una célula que expresa CD20 reconocida por un anticuerpo anti-CD3 biespecífico de la invención y/o eliminar una célula diana (por ejemplo, célula diana tumoral). En una realización de la divulgación, un "individuo" es un ser humano.

- 5 En un aspecto adicional, la divulgación proporciona un método para tratar un cáncer hematológico, tal como un cáncer de linfocitos B (por ejemplo, linfoma de linfocitos B maduros) mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo TDB biespecífico anti-CD3 de la invención que tiene un brazo anti-CD3 y un brazo anti-CD20. En un aspecto adicional de la divulgación, el linfoma de linfocitos B maduros es un linfoma no Hodgkin (NHL). En un aspecto adicional de la divulgación, el NHL se selecciona entre el grupo que comprende: DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL), linfoma de Burkitt (BL), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma esplénico de la zona marginal, tricoleucemia, linfoma/leucemia esplénica, no clasificable, linfoma de linfocitos B pequeños de la pulpa roja difusa esplénica, variante de tricoleucemia, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedades de cadenas pesadas, enfermedad de cadena pesada α , enfermedad de cadena pesada γ , enfermedad de cadena pesada μ , mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma solitario del hueso, plasmacitoma extraóseo, linfoma de la zona marginal extranodal de tejido linfocítico asociado a mucosa (linfoma MALT), linfoma de la zona marginal nodal, linfoma de la zona marginal nodal pediátrico, linfoma folicular pediátrico, linfoma del centro folicular cutáneo primario, linfoma de linfocitos B grandes rico en linfocitos T/histiocitos, DLBCL primario del SNC, DLBCL cutáneo primario, tipo pierna, DLBCL positivo a EBV en ancianos, DLBCL asociado a inflamación crónica, granulomatosis linfomatoide, linfoma de linfocitos B grandes mediastinales (tímicos) primario, linfoma de linfocitos B grandes intravascular, linfoma de linfocitos B grandes positivos a ALK, linfoma plasmablastico, linfoma de linfocitos B grandes que surge en enfermedad de Castleman multicéntrica asociada con HHV8, linfoma de efusión primario: linfoma de linfocitos B, no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de linfocitos B grandes y linfoma de Burkitt y linfoma de linfocitos B, no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de linfocitos B grandes y el linfoma de Hodgkin clásico. En una realización preferida de la invención, el método comprende tratar un cáncer que comprende DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL) o linfoma de Burkitt (BL).

- En una realización de la divulgación, el método comprende administrar a un individuo que tiene dicho cáncer hematológico (por ejemplo, cáncer de linfocitos B, por ejemplo, linfoma de linfocitos B) una cantidad eficaz de un anticuerpo TDB biespecífico anti-CD3 que comprende un brazo de direccionamiento anti-CD20 y un brazo de direccionamiento anti-CD3. En otras realizaciones de la divulgación, se coadministra un TDB para CD20 con uno o más agentes terapéuticos adicionales. En una realización de la divulgación, el agente terapéutico es un anticuerpo que se dirige a CD20. En una realización de la divulgación, se coadministra un TDB para CD20 con uno o más anticuerpos dirigidos contra CD20 seleccionados entre el anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra CD20, rituximab (Rituxan®) o el anticuerpo monoclonal dirigido contra CD20, obinutuzumab (Gazyva®). En una realización de la divulgación, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab. En una realización de la divulgación, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab. En una realización de la divulgación, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y rituximab.

- 45 En una realización adicional de la divulgación, el anticuerpo anti-CD3 de la invención se administra con un agente quimioterapéutico y/o un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) adicional. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con uno o más agentes quimioterapéuticos adicionales seleccionados entre ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona (CHOP). En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con CHOP, en donde la vincristina se reemplaza por un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con un ADC seleccionado entre un conjugado de anticuerpo anti-CD79b y un fármaco (tal como anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE o el conjugado de anticuerpo anti-CD79b y fármaco descrito en uno cualquiera de los documentos U.S. 8.088.378 y/o US 2014/0030280 o polatuzumab vedotina), un conjugado de anticuerpo anti-CD19-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD22-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD45-fármaco y un conjugado de anti-CD32-fármaco.

- 55 En una realización diferente, el agente terapéutico es un modificador biológico. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también

conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo de TGF beta de tipo II.

5 En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab y uno o más agentes quimioterapéuticos. En una de dichas realizaciones, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab y CHOP. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab y un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab y CHOP, en donde la vincristina se reemplaza por un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para
10 CD20 con un ADC seleccionado entre un conjugado de anticuerpo anti-CD79b y un fármaco (tal como anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE o el conjugado de anticuerpo anti-CD79b y fármaco descrito en uno cualquiera de los documentos U.S. 8.088.378 y/o US 2014/0030280 o polatuzumab vedotina), un conjugado de anticuerpo anti-CD19-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD22-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD45-fármaco y un conjugado de anti-CD32-fármaco. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab y uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo para TGF beta de tipo II.

30 En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab, uno o más agentes quimioterapéuticos y uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo para TGF beta de tipo II.

45 En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con rituximab, un ADC y uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo para TGF beta de tipo II.

60 En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y uno o más agentes quimioterapéuticos. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y CHOP. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y CHOP, en donde la vincristina se reemplaza por un ADC. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con un ADC seleccionado entre un conjugado de anticuerpo anti-CD79b y un fármaco (tal como anti-

CD79b-MC-vc-PAB-MMAE o el conjugado de anticuerpo anti-CD79b y fármaco descrito en uno cualquiera de los documentos U.S. 8.088.378 y/o US 2014/0030280 o polatuzumab vedotina), un conjugado de anticuerpo anti-CD19-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD22-fármaco, un conjugado de anticuerpo anti-CD45-fármaco y un conjugado de anti-CD32-fármaco. En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab y uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo para TGF beta de tipo II.

En una realización, se coadministra un TDB para CD20 con obinutuzumab, un ADC y uno o más modificadores biológicos seleccionados entre un inhibidor de BCL-2 (tal como GDC-0199/ABT-199), lenalidomida (Revlimid®), un inhibidor de PI3K-delta (tal como idelalisib (Zydelig®)), un antagonista de unión al eje de PD-1, un agonista, por ejemplo, anticuerpo agonista, dirigido contra una molécula coestimuladora activadora, por ejemplo, CD40, CD226, CD28, OX40 (por ejemplo, AgonOX), GITR, CD137 (también conocido como TNFRSF9, 4-1BB o ILA), CD27 (por ejemplo, CDX-1127), HVEM o CD127, un antagonista, por ejemplo, anticuerpo antagonista, dirigido contra una molécula coestimuladora inhibidora, por ejemplo, CTLA-4 (también conocido como CD152), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (por ejemplo, 1-metil-D-triptófano (también conocido como 1-D-MT)), TIGIT, MICA/B, GITR (por ejemplo, TRX518) o arginasa, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101 o Yervoy®), tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675.206, urelumab (también conocido como BMS-663513), MGA271, un antagonista dirigido contra TGF beta, por ejemplo, metelimumab (también conocido como CAT-192), fresolimumab (también conocido como GC1008), LY2157299k y una transferencia adoptiva de linfocitos T (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o CTL) que expresa un receptores de antígeno quimérico (CAR), por ejemplo, transferencia adoptiva de un linfocito T que comprende un receptor dominante negativo para TGF beta, por ejemplo, un receptor dominante negativo para TGF beta de tipo II.

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende un anticuerpo anti-CD20. En una realización, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En una realización, el anticuerpo anti-CD20 es un anticuerpo B-Ly1 humanizado. En una realización, el anticuerpo B-Ly1 humanizado es obinutuzumab. En una realización, el anticuerpo anti-CD20 es ofatumumab, ublituximab y/o ibritumomab tiuxetano.

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende un agente alquilante. En una realización, el agente alquilante es ácido 4-[5-[Bis(2-cloroetil)amino]-1-metilbencimidazol-2-il]butanoico y sales del mismo. En una realización, el agente alquilante es bendamustina.

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende un inhibidor de BCL-2. En una realización, el inhibidor de BCL-2 es 4-(4-{[2-(4-clorofenil)-4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il]metil}piperazin-1-il)-N-({3-nitro-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil)sulfonyl)-2-(1H-pirrolol[2,3-b]piridin-5-iloxi)benzamida y sales de la misma. En una realización, el inhibidor de BCL-2 es venetoclax (n.º CAS: 1257044-40-8).

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende un inhibidor de fosfoinosítido 3-cinasa (PI3K). En una realización, el inhibidor de PI3K inhibe la isoforma delta de PI3K es decir, P110δ). En algunas realizaciones, el inhibidor de PI3K es 5-fluoro-3-fenil-2-[(1S)-1-(7H-purin-6-ilamino)propil]-4(3H)-quinazolinona y sales de los mismos. En algunas realizaciones, el inhibidor de PI3K es idelalisib (n.º CAS: 870281-82-6). En una realización, el inhibidor de PI3K inhibe a las isoformas alfa y delta de PI3K. En algunas realizaciones, el inhibidor de PI3K es 2-{3-[2-(1-isopropil-3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-5,6-dihidrobenzo[f]imidazo[1,2-d][1,4]oxazepin-9-il]-1H-pirazol-1-il]-2-metilpropanamida y sales de la misma.

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende un inhibidor de tirosina cinasa de Bruton (BTK). En una realización, el inhibidor de BTK es 1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona y sales de la misma. En una realización, el inhibidor de BTK es ibrutinib (n.º CAS: 936563-96-1).

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende talidomida o un derivado de la misma. En una realización, la talidomida o un derivado de la misma es (RS)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona y sales de la misma. En una realización, la talidomida o un derivado de la misma es lenalidomida (n.º CAS: 191732-72-6).

En otro aspecto adicional de la invención, la terapia adicional comprende uno o más de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina o prednisolona (CHOP). En una realización, la terapia adicional comprende además un anticuerpo anti-CD20 como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, GA-101 y/o Rituxan®). Puede usarse cualquiera de los métodos y terapias anteriores, sin limitación, para cualquier cáncer, incluyendo, por ejemplo, el tratamiento de un cáncer de linfocitos B o cáncer de mama.

En un aspecto adicional, la invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprende cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 de la invención, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los métodos terapéuticos anteriores. En una realización, una formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. En otra realización, una formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-CD3 y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe en el presente documento.

Los anticuerpos de la invención pueden usarse o bien solos o en combinación con otros agentes en una terapia. Por ejemplo, puede coadministrarse un anticuerpo de la invención con al menos un agente terapéutico adicional. En ciertas realizaciones, un agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico, un agente inhibidor del crecimiento, un agente citotóxico, un agente usado en radioterapia, un agente antiangiogénico, un agente apoptótico, un agente antitubulina u otro agente, tal como un antagonista del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, un inhibidor de tirosina cinasa), un inhibidor de HER1/EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva™), inhibidor de factor de crecimiento derivado de plaquetas (por ejemplo, Gleevec™ (Imatinib mesilato)), un inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib), un interferón, una citocina, un anticuerpo distinto del anticuerpo anti-CD3 de la invención, tal como un anticuerpo que se une a una o más de las siguientes dianas, ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA VEGF o receptores de VEGF, TRAIL/Apo2, PD-1, PD-L1, PD-L2 u otro agente bioactivo o químico orgánico.

En algunas realizaciones, la invención posibilita el uso en un método en donde el agente terapéutico adicional es un glucocorticoide. En una realización, el glucocorticoide es dexametasona.

Dichas terapias combinadas indicadas anteriormente abarcan la administración combinada (donde se incluyen dos o más agentes terapéuticos en la misma formulación o en formulaciones separadas) y la administración por separado, en cuyo caso, la administración del anticuerpo de la invención puede producirse antes de, de manera simultánea y/o después de, la administración del agente o los agentes terapéuticos adicionales. En una realización, la administración del anticuerpo anti-CD3 y la administración de un agente terapéutico adicional se producen en aproximadamente un mes o en aproximadamente una, dos o tres semanas o en aproximadamente uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis días, entre sí. Los anticuerpos anti-CD3 de la invención (por ejemplo, anticuerpos anti-CD3 biespecíficos de la invención que se unen a CD3 y a una segunda molécula biológica, por ejemplo, un antígeno de la superficie celular, por ejemplo, un antígeno tumoral, tal como un anticuerpo TDB de la invención o una variante del mismo) también pueden usarse en combinación con radioterapia.

Un anticuerpo de la invención (y/o cualquier agente terapéutico adicional) para su uso en un método de terapia puede administrarse por cualquier medio adecuado, incluyendo administración parenteral, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para un tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. En algunos casos, el anticuerpo se administra mediante administración subcutánea. En algunos casos, un anticuerpo anti-CD3 administrado por inyección subcutánea muestra una respuesta menos tóxica en un paciente que el mismo anticuerpo anti-CD3 administrado por inyección intravenosa. La dosificación puede ser por cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyecciones, tales como inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica. Se contemplan en el presente documento varias pautas posológicas que incluyen, pero sin limitación administraciones individuales o múltiples a lo largo de varios puntos de tiempo, administración embolada e infusión pulsada.

Los anticuerpos de la invención pueden formularse, dosificarse y administrarse de una manera consistente con la buena práctica médica. Los factores a tener en cuenta en este contexto incluyen el trastorno particular que se va a tratar, el mamífero particular que se va a tratar, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, la pauta de administración y otros factores conocidos por los profesionales sanitarios. Aunque no es necesario, el anticuerpo se formula opcionalmente con uno o más agentes usados en la actualidad para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de dichos otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores descritos anteriormente. Estos se usan generalmente con las mismas dosis y por rutas de administración como las descritas en el presente documento o de aproximadamente el 1 al 99 % de las dosis descritas en el presente documento o en cualquier dosis y por cualquier vía que se haya determinado empíricamente/clínicamente como adecuada.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosis adecuada de un anticuerpo de la invención (cuando se usa solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales diferentes) dependerá del tipo de enfermedad que se vaya a tratar, el tipo de anticuerpo, la gravedad y la evolución de la enfermedad, de si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, de la terapia previa, de la historia clínica del paciente y de la

respuesta al anticuerpo y del criterio del médico responsable. El anticuerpo se administra adecuadamente al paciente una vez o en una serie de tratamientos.

Como regla general, la cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD3 administrado al ser humano se encontrará en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente mediante una o más administraciones. En algunas realizaciones, el anticuerpo se usa a de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 45 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg/kg administrado a diario, por ejemplo. En una realización, un anticuerpo anti-CD3 descrito en el presente documento se administra a un ser humano a una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg o aproximadamente 1400 mg en el día 1 de ciclos de 21 días. La dosis puede administrarse como una sola dosis o como múltiples dosis (por ejemplo, 2 o 3 dosis), tales como infusiones. Para administraciones repetidas a lo largo de varios días o un periodo mayor, dependiendo de la afección, se continuará generalmente el tratamiento hasta que suceda una supresión deseada de los síntomas de enfermedad. Una dosis a modo de ejemplo del anticuerpo se encontrará en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. Por tanto, pueden administrarse una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas) al paciente. Dichas dosis pueden administrarse de manera intermitente, por ejemplo, cada semana o cada tres semanas (por ejemplo, de tal forma que el paciente recibe de aproximadamente dos a aproximadamente veinte o, por ejemplo, aproximadamente seis dosis del anticuerpo anti-CD3). Puede administrarse una dosis de carga inicial superior, seguida de una o más dosis inferiores. El progreso de esta terapia se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

En algunos casos, los métodos pueden comprender además una terapia adicional. La terapia adicional puede ser radioterapia, cirugía, quimioterapia, terapia génica, terapia de ADN, terapia vírica, terapia de ARN, inmunoterapia, trasplante de médula ósea, nanoterapia, terapia con anticuerpos monoclonales o una combinación de los anteriores. La terapia adicional puede ser en forma de una terapia adyuvante o neoadyuvante. En algunos casos, la terapia adicional es la administración de inhibidor enzimático de molécula pequeña o un agente antimetastático. En algunos casos, la terapia adicional es la administración de agentes limitadores de los efectos secundarios (por ejemplo, agentes pensados para aminorar la aparición y/o gravedad de los efectos secundarios del tratamiento, tales agentes contra las náuseas, etc.). En algunos casos, la terapia adicional es radioterapia. En algunas realizaciones, la terapia adicional es cirugía. En algunos casos, la terapia adicional es una combinación de radioterapia y cirugía. En algunos casos, la terapia adicional es irradiación gamma. En algunos casos, la terapia adicional puede ser una administración separada de uno o más de los agentes terapéuticos descritos anteriormente.

H. Artículos de fabricación

En otro aspecto de la divulgación, se proporciona un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento, la prevención y/o el diagnóstico de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un envase y una etiqueta o prospecto sobre o asociado al envase. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los recipientes pueden formarse a partir de diversos materiales tales como vidrio o plástico. El envase contiene una composición que está sola o combinada con otra composición eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo de la invención. La etiqueta o prospecto indica que la composición se usa para tratar la dolencia de elección. Además, el artículo de fabricación puede comprender (a) un primer envase con una composición contenida en este, en donde la composición comprende un anticuerpo de la invención; y (b) un segundo envase con una composición contenida en este, en donde la composición comprende un agente citotóxico o de otro modo terapéutico adicional. El artículo de fabricación en esta realización de la invención puede comprender adicionalmente un prospecto que indica que las composiciones pueden usarse para tratar una afección concreta. Como alternativa o además, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo (o tercer) envase que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI, por sus siglas en inglés), solución salina tamponada con fosfato, disolución de Ringer y disolución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

III. Ejemplos

Lo siguiente son ejemplos de métodos y composiciones de la invención. Se entiende que pueden ponerse en práctica varias realizaciones diferentes, dada la descripción general proporcionada anteriormente.

Ejemplo 1. Generación de anticuerpos anti-CD3

Antígenos CD3ε*A. CD3ε + CD3γ humano y de cino biespecífico fusionado a IgG2a-Fc de ratón (CD3εγ-muFc)*

Se fusionó ADNc que codifica porciones extracelulares de CD3ε o CD3γ de ser humano o de mono cinomolgo (cino) en el extremo C-terminal a un Fc de IgG2a de ratón para generar fusiones de CD3-Fc. Los ADNc que codifican los dominios extracelulares de CD3ε y CD3γ de ser humano y de cino se generaron usando ARN total de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) activadas anti-CD3/anti-CD28. Se activaron PBMC normales mediante anti-CD3 y anti-CD28 inmovilizado en placa en RPMI suplementado con FBS al 10 % durante 72 h. El ARNm total se aisló usando un kit RNeasy mini de Qiagen. El ADNc se clonó usando cebadores para genes específicos mediante RT-PCR en vectores TOPO usando productos de la PCR amplificados con polimerasa Taq siguiendo el protocolo proporcionado con el kit de clonación TOPO TA de Invitrogen. Los fragmentos resultantes se introdujeron en un vector de expresión de mamífero que contenía un dominio de Fc de IgG2a mediante subclonación sin restricción usando ADN polimerasa de alta fidelidad Phusion (New England Biolabs, n.º de catálogo M0530L). De este modo, se amplificaron los fragmentos de CD3 con regiones solapantes contenidas en el plásmido molde para orientarlos directamente cadena debajo de la secuencia de señal y en N-terminal respecto del Fc murino.

Para las construcciones tanto humanas como de cino, el plásmido que contenía CD3ε-Fc se coexpresó transitoriamente con el plásmido que contenía CD3γ-Fc en células de mamífero CHO. Los heterodímeros de CD3ε/γ se purificaron mediante Proteína A-Sefarosa (Pharmacia Biotech).

B. Conjugados de péptido N-terminal-KLH (CD3ε-KLH)

Se sintetizaron fragmentos peptídicos que contenían secuencias N-terminales de CD3ε de cino y de ser humano. Los fragmentos pensados para inmunización se conjugaron a hemocianinas de lapa californiana (KLH), una proteína portadora ampliamente usada para generar una respuesta inmunitaria sustancial. El saliente de la cisteína de origen natural en la posición 28 para CD3ε de cino y de humano permitió el acoplamiento de KLH activada por maleimida a la cisteína C-terminal que contiene tiol.

C. CD3ε-26mero-CD3γ (CD3εγ) monocatenario

Se generaron mediante la PCR los ADNc que codificaban porciones extracelulares de subunidades de CD3ε y CD3γ. Se conectaron los aminoácidos 1-97 de CD3ε humano y los aminoácidos 1-81 de CD3γ humano usando un enlazador peptídico flexible de 26 aminoácidos para formar una construcción de CD3ε-26mero-CD3γ (CD3εγ) (figura 1). La construcción se clonó en un vector de expresión con un marcador de His para su secreción por *E. coli* usando el promotor de fosfatasa alcalina y la secuencia de señal de secreción STIII. Se purificó CD3εγ en una columna de Ni y posteriormente se volvió a plegar. Posteriormente, se purificó CD3εγ adecuadamente legado usando una columna de afinidad OKT3.

Además, para algunos experimentos de unión, se adquirió CD3ε comercial de Creative Biomart, Shirley, Nueva York 11967 (Número de catálogo CD3E-2194H).

Inmunizaciones*A. Inmunizaciones de ratón*

Se inmunizaron ratones BALB/c o C57BL/6 (2 µg o 10 µg/inyección por ratón). Los antígenos, suspendidos en adyuvante de lípido A de monofosforilo/dicorinomicolato de trehalosa, se inyectaron en la almohadilla plantar a intervalos de 3 a 4 días hasta un total de 12-15 refuerzos. Tres días después del último refuerzo previo a la infusión, se recogieron linfocitos de bazo y ganglios linfáticos de ratones inmunizados. Los linfocitos de ratón aislados se fusionaron con células de mieloma SP2/0-Ag14 (Colección Americana de Cultivos Tipo) usando el aparato Cyto Pulse CEEF-50 (Cyto Pulse Sciences). En resumen, después de lavar dos veces con el medio Cytofusión C (n.º de cat. LCM-C), se mezclaron las células de bazo aisladas y las células SP2/0-Ag14 a una relación 1:1 y después se suspendieron a razón de 10 millones de células/ml en medio Cytofusión C, la electrofusión se llevó a cabo de acuerdo con las guías del fabricante. Las células fusionadas se cultivaron en medio ClonaCell-HY C (n.º de cat. 03803) durante una noche en una estufa de incubación a 37 °C con CO₂ al 7 %. Al día siguiente, se centrifugaron las células fusionadas y después se suspendieron en 10 ml de medio ClonaCell-HY C y después se mezclaron cuidadosamente con 90 ml de medio ClonaCell-HY D a base de metilcelulosa (n.º de cat. 03804) que contenía componentes de HAT. Las células se sembraron en placas OmniTray (Thermo Scientific) y se dejaron crecer en una estufa de incubación a 37 °C con CO₂ al 7 %. Después de 6-7 días de incubación, se recogieron clones de hibridoma individuales mediante ClonePiz FL (Molecular Devices) y se transfirieron a placas de cultivo celular de 96 pocillos (n.º 353075, Becton Dickinson) con 200 µl/pocillo de medio ClonaCell-HY E (n.º de cat. 03805). Los medios de cultivo de hibridoma se cambiaron antes de la detección sistemática por ELISA.

B. Inmunizaciones de conejos

Se llevaron a cabo inmunizaciones de conejo usando 0,5 mg/inyección de CD3ε-KLH de ser humano y de cino con CFA/IFA cada 2 semanas durante 5 inyecciones (d0, d14, d28, d42, d56). Se tomaron muestra de sangre en los días 52 y 66.

Las fusiones con PEG y la detección sistemática se llevaron a cabo como se expone a continuación. Los clones se sometieron a detección sistemática de la unión a la porción N-terminal de CD3ε conjugado a tiroglobulina (THY) mediante ELISA. Se observó que todos los clones positivos reaccionaban de manera cruzada con CD3ε de cino mediante ELISA y se seleccionaron 16 clones únicos para subclonación. El ARN total se extrajo de sedimentos celulares congelados y se purificó usando un kit Qiagen RNeasy siguiendo las instrucciones del fabricante. Se sintetizó la primera hebra de ADNc usando RT-PCR en una etapa (Qiagen). Los dominios VH y VL de conejo se amplificaron adicionalmente mediante la PCR usando un protocolo descrito para generar bibliotecas inmunitarias de conejo (Kontermann y Dubel. *Antibody Engineering*. 1: 115-123, 2010). Se diseñó una degeneración moderada para representar los genes de inmunoglobulina de línea germinal de conejo.

Detección sistemática de anticuerpos

A. Detección sistemática de hibridoma de ratón

3 días después del cambio de medio, los sobrenadantes de hibridoma se sometieron a detección sistemática mediante ELISA para la unión a CD3ε tanto humano como de cino, como se describe a continuación. Todos los clones positivos para ELISA se sometieron adicionalmente a detección sistemática mediante citometría de flujo para la unión a linfocitos T Jurkat humanos, a PBMC humanas y a PBMC de cino (figuras 2 y 3). Los sobrenadantes de hibridoma se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A, después se esterilizaron por filtración (tamaño de poro de 0,2 µm, Nalge Nunc International, NY, EE. UU.) y se almacenaron a 4 °C en PBS. Los mAb purificados se confirmaron mediante ELISA antes de evaluarlos adicionalmente en ensayos funcionales. El isotipo del mAb se determinó usando un kit de isotipado de anticuerpos monoclonales de ratón de Roche Diagnostics Corporation.

En la figura 4A se muestran las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera y pesada de los anticuerpos anti-CD3 13A3, 72H6 y 19B1. La figura 4A también delimita las secuencias de HVR para cada uno de los tres anticuerpos. Las figuras 4B, 4C, 5A y 5B muestran secuencias de aminoácidos adicionales de los dominios variables de cadena ligera y pesada de los otros anticuerpos anti-CD3.

B. Detección sistemática después de las inmunizaciones de conejo

Se clonaron ocho secuencias únicas de cadena pesada y seis secuencias únicas de cadena ligera de las líneas celulares de hibridoma. La figura 7 muestra las secuencias de cadena pesada y de cadena ligera para uno de estos anticuerpos, Rab17. La alta similitud de secuencia hizo que se tomase la decisión de centrarse en 6 pares de cadena pesada y ligera. Los 6 anticuerpos resultantes se expresaron como IgG quiméricas de conejo/humano a pequeña escala (cultivos de 100 ml de 293S) y se sometieron a detección sistemática de la unión a CD3 εpsilon mediante ELISA.

Caracterización de anticuerpos - Ensayos de afinidad de unión y de actividad de activación de linfocitos T

A. Ensayo de ELISA de unión a CD3εγ

El ensayo de ELISA de unión a CD3εγ se llevó a cabo en placas ELISA de microtitulación de 96 pocillos (Greiner, Alemania) recubiertas con los aminoácidos N-terminales de CD3ε de humano/cino conjugados a THY o de CD3ε/γ de humano/cino fusionados a Fc murino a 2 µg/ml en tampón carbonato 0,05 M (pH 9,6), 4 °C durante una noche. Después de lavar tres veces con tampón de lavado (Tween 20 al 0,05 % en PBS), las placas se bloquearon con 200 µl de diluyentes de ensayo ELISA con BSA. Se añadieron 100 µl de sobrenadantes de cultivo o mAb purificados diluidos y se incubaron durante 1h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces y se incubaron con anticuerpo de cabra anti-Fc de IgG de ratón conjugado con HRP durante 1 hora. Después de lavar tres veces, la enzima unida se detectó mediante la adición de 100 µl/pocillo de sustrato TMB (BioFX Laboratories, MD, EE. UU.) durante 5 min. Las reacciones se detuvieron añadiendo 100 µl/pocillo de reactivo de paro (BioFX, Laboratories, MD, EE. UU.) y detección de color a A_{630nm}.

B. Análisis por citometría de flujo

Se lavaron dos veces linfocitos T Jurkat, PBMC humanas o PBMC de cino con tampón de tinción de FACS (suero salino tamponado con fosfato que contenía suero fetal bovino al 1 %) y después se suspendieron en tampón de tinción de FACS a una concentración final de 5 x 10⁶ células/ml. Se añadieron 100 µl de células a una placa de cultivo tisular de 96 pocillos de fondo en U (n.º 353077, Becton Dickinson) y se añadieron 100 µl de sobrenadantes de hibridoma o de mAb purificados diluidos. Después de 30 min de incubación sobre hielo, se lavaron las células dos veces con tampón de tinción de FACS y posteriormente se tiñeron con anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón conjugado con FITC o alofococianina (APC) (n.º 1012-11, Southern Biotech) a una dilución 1:300 durante 30 min. Después de lavar dos

veces con tampón de tinción de FACS, se analizaron las células con un citómetro de flujo FACSCalibur (BD Biosciences). Los datos se analizaron usando el programa informático FlowJo (Tree Star, Inc.).

C. Ensayo de activación de linfocitos T humanos

Se recogió sangre humana en jeringas heparinizadas y las PBMC se aislaron usando Leucosep (Greiner Bioone, n.º de cat. 227290P) y Ficoll Paque Plus (GE Healthcare Biosciences, n.º de cat. 95038-168), como se recomienda por el fabricante. Las células se lavaron en medio RPMI que contenía FBS al 10 %, suplementado con GlutaMax (Gibco, n.º de cat. 35050-061), penicilina y estreptomycin (Gibco, n.º de cat. 15140-122) y se añadieron ~0,2 millones de células en suspensión a una placa de 96 pocillos de fondo en U. Se añadieron anticuerpos anti-CD3 a entre 10 y 0,01 µg/ml. Después de cultivar durante ~20 horas, las células se lavaron con tampón de FACS (BSA al 0,5 %, azida de Na al 0,05 % en PBS). Después, se tiñeron las células con anti-CD69-FITC (BD, n.º de cat. 555530), anti-CD25-PE (BD, n.º de cat. 555432) anti-CD4-APC (BD, n.º de cat. 555349) o anti-CD8-APC (BD, n.º de cat. 555369) en tampón de FACS, se lavaron con tampón de FACS y se suspendieron en 100 µl de tampón de FACS que contenía 1 µg/ml de yoduro de propidio. Los datos se recogieron en un citómetro de flujo FACSCalibur y se analizaron usando FlowJo. Se determinó el alcance de la activación de linfocitos T en comparación con el porcentaje de la población CD69+ y CD25+ en los linfocitos T CD4+ y CD8+.

D. Ensayo de activación de linfocitos T de cino

Se recogió sangre de cino en tubos heparinizados. Los glóbulos rojos se lisaron dos veces con tampón de lisis de glóbulos rojos sanguíneos ACK (NH₄Cl al 0,874 %, KHCO₃ al 0,1 %, EDTA disódico 0,00368). Las células se lavaron en medio RPMI que contenía FBS al 10 %, suplementado con GlutaMax (Gibco, n.º de cat. 35050-061), penicilina y estreptomycin (Gibco, n.º de cat. 15140-122) y se añadieron ~0,2 millones de células en suspensión a una placa de 96 pocillos de fondo en U. Se añadieron anticuerpos anti-CD3 a 10 µg/ml. Después de cultivar durante ~20 horas, las células se lavaron con tampón de FACS (BSA al 0,5 %, azida de Na al 0,05 % en PBS). Después, se tiñeron las células con anti-CD69-FITC (BD, n.º de cat. 555530), anti-CD25-PE (BD, n.º de cat. 555432) anti-CD4-APC (BD, n.º de cat. 551980) en tampón de FACS, se lavaron con tampón de FACS y se suspendieron en 100 µg de tampón de FACS que contenía 1 µg/ml de yoduro de propidio. Los datos se recogieron en un citómetro de flujo FACSCalibur y se analizaron usando FlowJo. Se determinó el alcance de activación de linfocitos T comparando el porcentaje de población CD69+ y CD25+ en los linfocitos T CD4+.

Generación de variantes de anticuerpo anti-CD3

A. Clonación y secuenciación de hibridomas con reactividad cruzada con CD3ε de humano/cino

Se extrajo el ARN total de células de hibridoma de ratón con el kit RNeasy (Qiagen) y se sintetizó la primera de ADNc usando un kit de RT SuperScript III (Invitrogen). Los genes de anticuerpo se amplificaron mediante PCR de polimerasa Taq a prueba de errores con una mezcla de cebadores 5' degenerados y cebadores específicos para 3' C_γ, C_κ, C_λ. Los productos de la PCR se purificaron y se obtuvieron las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo secuenciando el producto de la PCR. Se digirieron las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo con enzimas de restricción adecuadas y se clonaron en los respectivos vectores de expresión pRK. Los anticuerpos murinos se expresaron en células 293.

B. Humanización

Se alinearon secuencias de hibridomas con reactividad cruzada con CD3ε de humano/cino con los dominios variables de cadena ligera y pesada consenso o de línea germinal más homólogos (figura 7). Una secuencia consenso denominada mu40G5c se obtuvo de dominios variables de cadena ligera y pesada de clones de hibridoma relacionados (figura 7). Las regiones hipervariables (HVR) se introdujeron por ingeniería genética en marcos aceptores de cadena ligera y pesada humana para generar injertos de CDR humanizados (véanse, por ejemplo, las figuras 8A-8F). Las variantes humanizadas se evaluaron en forma de fragmentos Fab o como IgG. Las posiciones del dominio VL 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) y las posiciones del dominio VH 26-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) se usaron para los injertos (figuras 8A-8F). También se generaron variantes adicionales que incluían varias combinaciones de una o más posiciones de Vernier de ratón y se evaluó su afinidad de unión (véanse, por ejemplo, las figuras 9A-9F). Los restos de dominio variable murino en posiciones de Vernier seleccionados se incorporaron en una secuencia humanizada final basándose en su capacidad para mejorar la afinidad de unión. Las afinidades de unión monovalente para anticuerpos humanizados seleccionados por diferentes antígenos CD3ε se muestran en la figura 10. Las afinidades de unión para las variantes de afinidad del anticuerpo anti-CD3 humanizado 38E4 (38E4v1-38E4v9) y 40G5c se muestran en la figura 11.

C. Mapeo de parátomos

Se mutó cada resto en HVR-L3 y HVR-H3 de hu38E4 por separado a alanina usando mutagénesis de Kunkle. Además, la posición 95 en HVR-H3 también se mutó a serina, treonina o glutamato. Las variantes con estas mutaciones puntuales se expresaron como Fab en células HEK293 y se sometieron a detección sistemática inicialmente con un

método cinético de un solo ciclo en un dispositivo Biacore T100. También se aumentó la escala de variantes seleccionadas y se purificaron para un método cinético multiciclo convencional. Para la cinética de un solo ciclo, se inmovilizaron microplacas sensoras CM5 serie S de Biacore con anticuerpos anti-Fab humano (kit de captura de Fab humano, GE Healthcare). Cada Fab se capturó del sobrenadante de cultivo y se inyectaron concentraciones crecientes (en el intervalo de 3 nM a 250 nM en tampón HSBP) de CD3 ϵ humano secuencialmente a un caudal de 30 μ l/min en un solo ciclo de análisis sin regeneración de la superficie entre inyecciones; se adquirieron 10 min de disociación por cada ciclo. Para la cinética convencional multiciclo, se inmovilizaron CD3 ϵ humano, CD3 ϵ de cino o un péptido 27 mero sobre una microplaca sensora CM5 de serie S de Biacore usando el kit de acoplamiento de amina de Biacore. Se inyectaron diluciones seriadas de factor 3 de cada variante Fab a un caudal de 30 μ l/min. Cada muestra se analizó con un protocolo de 3 minutos de asociación y 3 minutos de disociación. En ambos métodos, las microplacas de Biacore se regeneraron usando glicina 10 mM (pH 1,7). La respuesta de unión se corrigió restando el blanco y se usó un modelo 1:1 de Langmuir de ajuste simultáneo de k_{on} y k_{off} para el análisis cinético. Los efectos de estas mutaciones, resumidos en la figura 12, indican que el resto R96 de cadena ligera y los restos de cadena pesada Y97, R99 y F100b desempeñan papeles críticos en la unión a CD3 ϵ .

D. Mapeo de epítomos de CD3

Se introdujeron mutaciones de alanina en CD3 ϵ ¹⁻²⁷-Fc para evaluar el reconocimiento de epítomos de anticuerpos anti-CD3 ϵ unidos en N-terminal. Cada variante CD3 ϵ ¹⁻²⁷-Fc se inmovilizó sobre placas Nunc Maxisorp durante una noche en PBS a 2 μ g/ml a 4 °C. Después de bloquear las placas con leche en polvo al 2 % en PBS que contenía Tween 20 al 0,05 % durante 1 h, se añadieron 100 μ l de anti-CD3 ϵ 3 nM a cada pocillo y se dejaron unir durante 1 h a 25 °C. Después de 6 lavados con PBS que contenía Tween 20 al 0,05 %, se detectó la unión de anticuerpo mediante la adición de anticuerpo secundario anti-IgG de ratón-HRP, como se representa en la figura 13A.

Se subclonó CD3 ϵ en un fagémido M13 que contiene un marcador gD C-terminal seguido de un codón de parada amber, de tal forma que puede mostrarse sobre un fago o expresarse en una cepa no supresora de *E. coli*. Este fagémido de CD3 ϵ se usó como molde para producir mutaciones individuales de alanina en CD3 ϵ mediante mutagénesis de Kunkel. Cada mutante de alanina de CD3 ϵ presentado sobre fago, se confirmó mediante secuenciación de ADN, se aisló de una sola colonia, se cultivó durante una noche en 2YT/Carb más fago auxiliar KO7 y se purificó mediante precipitación con PEG. El efecto de la mutación de alanina en CD3 ϵ en la unión del anticuerpo anti-CD3 se evaluó usando un ELISA para fago. Cada anticuerpo anti-CD3 se inmovilizó sobre una placa NUNC maxisorp a 2 μ g/ml en tampón PBS durante una noche a 4 °C. El sobrenadante de fago purificado que mostraba una variante de alanina de CD3 ϵ (DO₄₅₀ de 1,0) se añadió a la placa y se dejó unir a temperatura ambiente con agitación durante 1 h. Después del lavado, el fago unido se detectó con anti-M13-HRP (GE Healthcare, n.º de cat. 45-001-419). La unión de cada variante de alanina de CD3 ϵ se comparó con la unión a fago de CD3 ϵ de tipo silvestre (figura 13B). Las variantes de alanina que tuvieron impacto en la unión del anticuerpo anti-CD3, se caracterizaron adicionalmente evaluando la unión en función de la concentración de fago (figura 13C).

Para cuantificar el impacto de mutaciones de alanina en CD3 en la unión del anticuerpo, se expresaron mutantes de alanina de CD3 seleccionados en una cepa no supresora de *E. coli*. Las variantes de CD3 ϵ secretadas se capturaron de la fracción periplásmica en bruto usando el anticuerpo anti-CD3 UCHT1v9. Se inmovilizó UCHT1v9 sobre una microplaca sensora CM5 serie S mediante acoplamiento de amina usando el kit de captura de anticuerpo anti-IgG humana (Fc) (BR-1008-39) de GE Healthcare. Las mediciones de SPR se llevaron a cabo en el instrumento Biacore 4000, utilizando el programa informático de evaluación cinética. Para medir las afinidades de unión monovalentes, se usaron anticuerpos anti-CD3 biespecíficos en los que un brazo era el anti-CD3 a ensayar y el otro brazo reconocía un antígeno irrelevante. Los anticuerpos anti-CD3 biespecíficos se pasaron sobre el sobrenadante capturado en una serie de concentraciones de diluciones de factor dos de 0,39 a 100 nM. Las cinéticas resultantes (figura 13D) se midieron y calcularon usando el programa informático Biacore 4000 BIAevaluation (código de producto 28-9664-57).

E. Mapeo estructural del sitio de unión de CD3 ϵ

1. Fab Hu38E4.v1

Fab Hu38E4.v1, disuelto en NaCl 0,15 M, Tris 25 mM, pH 7,5 a 10 mg/ml y un exceso molar de factor 2 (1 mg) de péptido CD3 ϵ , QDGNEEMGGITQTPYK (SEQ ID NO: 284) (figura 14A), se mezclaron y se sometieron a ensayos de cristalización. La detección sistemática inicial se efectuó con una matriz dispersa de precipitantes en un formato de difusión de vapor de gota sedente. Los cristales optimizados crecieron a partir de una mezcla 1:1 con una solución de depósito que contenía un 70 % v/v de metil-pentanodiol y tampón HEPES 0,1 M a pH 7,5. El depósito se usó como crioprotector. Los cristales se transfirieron a temperatura criogénica mediante inmersión rápida en nitrógeno líquido.

Los datos de difracción para el cocrystal de Fab hu38E4.v1 y péptido CD3 ϵ se recogieron en un dispositivo de línea de haz de fuente de fotones avanzada 221D, usando un detector CCD MAR300. Después, las difracciones registradas se integraron y escalaron usando el programa HKL2000.

La estructura se organizó mediante un método de reemplazo molecular (MR) usando el programa Phaser. El modelo de búsqueda de MR fue una subunidad de Fab procedente de una estructura cristalina del complejo de HGFA/Fab

(código de PDB: 2R0L). El péptido de CD3 ϵ se incorporó en la estructura basándose en un mapa de Fo-Fc. Posteriormente, se refinó la estructura con los programas REFMAC5 y PHENIX usando las funciones diana de máxima probabilidad, el método de refinado de factor B individual anisotrópico y el método de refinado de TLS, para lograr la convergencia. Los datos y las estadísticas de refinado se muestran en la tabla 3A.

5

TABLA 3A. Recogida de datos y estadísticas de refinado para el complejo hu38E4.v1/CD3 ϵ

Grupo espacial	P3221
Celda unitaria	a=73,2Å, b=73,2Å, c=183,7Å $\alpha=90^\circ$ $\beta=120^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Resolución	50,0 - 1,95 Å
Número total de reflexiones	42632 (4188) ¹
Compleitud (%)	100 (100)
Redundancia	19,7 (8,3)
I/ σ	7,1 (3,0)
Rsim ²	0,112 (0,812)
Intervalo de resolución	50 - 1,95 Å
Rcrist ³ / Rlibre ⁴	0,152/0,185
Átomos distintos de hidrógeno	3960
Moléculas de agua	446
Media B, Global	21,97
Media B, Proteína	20,63
Media B, Agua	32,27
r.m.s.d. longitudes de enlace	0,009 Å
r.m.s.d. ángulos	1,258°
¹ Los valores entre paréntesis son de la cubierta de mayor resolución, que es de 2,02 Å - 1,95 Å.	
² Rsim = $\sum I_{hi} - I_h / \sum I_{hi}$, donde I_{hi} es la intensidad a escala de la i -ésima observación de simetría de la reflexión h e I_h es el valor medio.	
³ Rcrist = $\sum F_{o,h} - F_{c,h} / \sum F_{o,h}$, donde $F_{o,h}$ y $F_{c,h}$ son las amplitudes de factor de estructura observadas y calculadas para la reflexión h .	
⁴ El valor de Rlibre se calcula para el 5 % de reflexiones elegidas al azar no incluidas en el refinado.	

La estructura cristalina del complejo de Fab hu38E4.v1/péptido de CD3 ϵ se determinó a una resolución de 1,9Å. La estructura reveló que el péptido CD3 ϵ produce un pequeño giro y se inserta profundamente entre el surco entre las cadenas pesada y ligera del Fab 38E4.v1 (figuras 14B y 14C). La unión entierra 666 Å² de área superficial accesible al disolvente entre el péptido y el fragmento Fab e implica una compleja red de interacciones hidrófobas, de unión a hidrógeno e iónicas (figura 14D). El anillo de piroglutamato (piroglu) N-terminal se empaqueta contra Tyr33 de la cadena pesada y forma un enlace de hidrógeno con His35 de cadena pesada en la HVR-H1. La cadena lateral voluminosa del resto F100b en la HVR-H3 empuja la His35 en una orientación adecuada para su interacción con piroglu y explica la pérdida de unión observada cuando se muta F100b a alanina, un resto con cadena lateral pequeña. Además, de manera consistente con los resultados de barrido de alanina, R96 en la CDR-L3 produce un enlace de hidrógeno crítico con el grupo carboxilo en el piroglu, mientras que Y97 en la CDR-H3 produce un enlace de hidrógeno con Met7 del péptido CD3 ϵ (figura 14E). De manera interesante, aunque la sustitución por alanina en R99 en la CDR-H3 tiene un efecto dramático en la unión al antígeno, la estructura revela que esta cadena lateral está orientada hacia fuera del péptido CD3 ϵ y no implica ninguna interacción con el péptido. En cambio, R99 efectúa contactos extensos con varios restos en la CDR-H3, incluyendo un enlace de hidrógeno con D101 y empaquetado hidrófobo contra Y100a, que tiene impacto adicional en el resto de Vernier, LC Y49 (figura 14F). Probablemente, estas interacciones son importantes para el soporte y la disposición general de los bucles de CDR en el Fab 38E4.v1 organizando el surco central crítico entre las cadenas pesada y ligera para posibilitar la unión al péptido CD3 ϵ .

La FIGURA 14G identifica todos los restos del Fab 38E4.v1 que se determinó que residen a 5Å del péptido CD3 ϵ . Estos restos de contacto con el antígeno son idénticos entre hu38E4.v1 y hu40G5c, excepto por que el resto G96 de hu38E4.v1 es un resto de serina (S96) en hu40G5 (véase la figura 14H, que representa la ubicación del resto de contacto G96 de hu38E4.v1).

Los contactos entre el anti-CD3 (38E4.v1) y el péptido CD3 ϵ se calcularon basándose en el barrido de alanina. Los epítopos reconocidos por el anti-CD3 38E4.v1 son contactos con una distancia de 3,5 Angstrom o más corta, como se proporciona en la tabla 3B a continuación. A partir de este análisis, se observó que los epítopos de CD3 Gln1 (PCA1, ácido piroglutámico), Asp2, Glu6 y Met7 eran restos formadores de contactos importantes con los parátomos de la cadena ligera y las regiones variables de cadena pesada del anticuerpo para CD3.

TABLA 3B. Contactos con CD3 para el complejo hu38E4.v1/CD3c

Cadena de anticuerpo	Restos	Nombre del átomo	Átomo	Péptido de CD3	Restos	Nombre del átomo	Átomo	Distancia
/L/	96(ARG)	NH2	N	/A/	I(PCA)	O	O	2,76
/H/	35(HIS)	NE2	N	/A/	I(PCA)	OE	O	2,85*
/L/	96(ARG)	NH1	N	/A/	I(PCA)	O	O	2,9
/L/	96(ARG)	CZ	C	/A/	I(PCA)	O	O	3,24
/H/	33(TYR)	CG	C	/A/	I(PCA)	OE	O	3,27
/L/	96(ARG)	NH2	N	/A/	I(PCA)	OE	O	3,28
/H/	100(TYR)	CD1	C	/A/	I(PCA)	O	O	3,33
/H/	33(TYR)	CB	C	/A/	I(PCA)	OE	O	3,34
/L/	96(ARG)	NH2	N	/A/	I(PCA)	DT	C	3,35
/H/	33(TYR)	CD2	C	/A/	I(PCA)	OE	O	3,44
/H/	50(TRP)	CH2	C	/A/	I(PCA)	N	N	3,45
/H/	33(TYR)	CD2	C	/A/	I(PCA)	DT	C	3,47
/H/	50(TRP)	CZ3	C	/A/	I(PCA)	N	N	3,48
/L/	94(LEU)	N	N	/A/	2(ASP)	OD1	O	2,71
/H/	50(TRP)	CH2	C	/A/	2(ASP)	OD1	O	3,23
/L/	92(PHE)	O	O	/A/	2(ASP)	CB	C	3,44
/H/	100(TYR)	CE1	C	/A/	2(ASP)	O	O	3,48
/L/	91(SER)	O	O	/A/	3(GLY)	N	N	2,88
/L/	27(ASN) ^d	ND2	N	/A/	3(GLY)	O	O	2,96
/L/	92(PHE)	O	O	/A/	3(GLY)	N	N	3,22
/L/	32(TYR)	OH	O	/A/	3(GLY)	O	O	3,3
/L/	32(TYR)	CZ	C	/A/	3(GLY)	O	O	3,42
/L/	32(TYR)	CE2	C	/A/	3(GLY)	O	O	3,42
/L/	91(SER)	O	O	/A/	3(GLY)	CA	C	3,49
/L/	92(PHE)	O	O	/A/	4(ASN)	N	N	2,81
/L/	27(ARG) ^f	NH1	N	/A/	4(ASN)	O	O	3,06
/L/	92(PHE)	O	O	/A/	4(ASN)	CB	C	3,11
/L/	92(PHE)	CZ	C	/A/	4(ASN)	OD1	O	3,43
/L/	32(TYR)	OH	O	/A/	6(GLU)	OE1	O	2,58*
/L/	30(LYS)	NZ	N	/A/	6(GLU)	OE2	O	2,74*
/L/	27(ARG) ^f	NH1	N	/A/	6(GLU)	O	O	2,77
/L/	27(ASN) ^d	ND2	N	/A/	6(GLU)	O	O	3,04
/L/	30(LYS)	NZ	N	/A/	6(GLU)	OE1	O	3,2
/L/	30(LYS)	DT	C	/A/	6(GLU)	OE1	O	3,35
/L/	30(LYS)	NZ	N	/A/	6(GLU)	DT	C	3,36
/H/	100(TYR)	CE2	C	/A/	6(GLU)	OE1	O	3,4
/H/	98(SER)	CA	C	/A/	6(GLU)	OE2	O	3,42
/H/	100(TYR)	OH	O	/A/	6(GLU)	CB	C	3,44
/L/	32(TYR)	CZ	C	/A/	6(GLU)	OE1	O	3,47
/H/	97(TYR)	OH	O	/A/	7(MET)	N	N	2,87
/L/	27(ARG) ^f	NE	N	/A/	7(MET)	O	O	2,95
/H/	97(TYR)	OH	O	/A/	7(MET)	CB	C	3,49
/L/	27(ARG) ^f	DT	C	/A/	7(MET)	O	O	3,5

*Representa enlace de hidrógeno entre dos cadenas laterales

Las celdas sombreadas en gris representan contactos de enlace de hidrógeno fiables.

- 5 Los contactos en negrita son enlaces de hidrógeno formados entre cadenas laterales y armazones de cadena principal.

2. Fab SP34v52

- 10 Se disolvió el Fab SP34v52 en NaCl 0,25 M, MES 25 mM a pH 5,5 a 10 mg/ml. La detección sistemática de cristalización inicial se efectuó con una detección sistemática de matriz dispersa (PEGII, Qiagen) en un formato de difusión de vapor de gota sedente. Se encontró un acierto de cristalización en una gota con el depósito que contenía CaCl₂ 0,2 M, HEPES 0,1 M a pH 7,5, y PEG 4000 al 30 % p/v. Los cristales optimizados crecieron a partir de una mezcla de 2 µl de proteína y 2 µl de solución de depósito que contenía PEG 3350 al 20-23 % p/v, HEPES 0,1 M a pH

7,2, CaCl₂ 0,1 M. Se usó el método de difusión de vapor de gota colgante y la gota de cristalización final se incubó a 18 °C.

Se recogieron los datos de difracción para el Fab SP34v52 en la línea 12-2 de haz de fuente de luz del sincrotrón de Stanford, usando un detector PILATUS. Las difracciones registradas se integraron posteriormente usando el programa XDS y se escalonaron usando el programa SCALA. La estructura se organizó mediante un método de reemplazo molecular (MR) usando el programa Phaser. El modelo de búsqueda de MR fue una subunidad de Fab procedente de una estructura cristalina del complejo de HGFA/Fab (código de PDB: 2R0L). El péptido de CD3 ϵ se incorporó en la estructura basándose en un mapa de F_o-F_c. Posteriormente, se refinó la estructura con los programas REFMAC5 y PHENIX usando las funciones diana de máxima probabilidad, el método de refinado de factor B individual anisotrópico y el método de refinado de TLS, para lograr la convergencia. Los datos y las estadísticas de refinado se muestran en la tabla 4 a continuación.

TABLA 4. Recogida de datos y estadísticas de refinado para SP34v52

Grupo espacial	P622
Celda unitaria	a=b=146,3Å, c=80,1Å $\alpha=90^\circ$ $\beta=90^\circ$ $\gamma=120^\circ$
Resolución	50,0 - 2,50 Å
Número total de reflexiones	18004 (170) ¹
Compleitud (%)	100 (100)
Redundancia	19,3 (19,7)
I/ σ	24,0 (3,6)
Rsim ²	0,127 (0,896)
Intervalo de resolución	50 - 2,50 Å
Rcrist ³ / Rlibre ⁴	0,152/0,185
Átomos distintos de hidrógeno	3451
Moléculas de agua	123
Media B, Global	29,59
Media B, Proteína	29,81
Media B, Agua	22,47
r.m.s.d. longitudes de enlace	0,007 Å
r.m.s.d. ángulos	1,163°
¹ Los valores entre paréntesis son de la cubierta de mayor resolución, que es de 2,51Å - 2,50Å.	
² Rsim = $\sum I_{hi} - \bar{I}_h / \sum I_{hi}$, donde I_{hi} es la intensidad a escala de la i -ésima observación de simetría de la reflexión h e $\bar{I}_h$ es el valor medio.	
³ Rcrist = $\sum F_{o,h} - F_{c,h} / \sum F_{o,h}$, donde $F_{o,h}$ y $F_{c,h}$ son las amplitudes de factor de estructura observadas y calculadas para la reflexión h .	
⁴ El valor de Rlibre se calcula para el 5 % de reflexiones elegidas al azar no incluidas en el refinado.	

En las figuras 14I -14L, se compararon las estructuras cristalinas de los Fab hu38E4.v1 y SP34v52 en la misma orientación. Cuando se superpuso el péptido de CD3 ϵ sobre el Fab SP34v52 con la misma orientación que en el hu38E4.v1, se observaron choques evidentes del péptido con SP34v52 (figura 14L). Los restos de HVR-H2 R50 y R52 de SP34v52, que no estaban presentes ni en hu38E4.v1 ni en hu40G5c, se observó que eran importantes para la unión de CD3 con SP34v52 (figura 14L). Estos datos demuestran que hu38E4.v1 y hu40G5c se unen a CD3 de un modo distinto al de SP34v52.

La estructura cristalina de hu38E4.v1 en complejo con el péptido N-terminal de CD3 ϵ se ilustra en las figuras 14M y 14N. La figura 14M proporciona una vista ampliada de las interacciones intermoleculares clave implicadas en el contacto con el sexto resto en CD3 ϵ . En una vista ampliada, la figura 14N representa un modelo de relleno de espacio del complejo de Fab/péptido de CD3, donde el quinto resto está apuntando completamente hacia fuera del sitio de interacción. El sexto resto, como se muestra, está implicado en las interacciones con el Fab y apunta hacia el sitio activo.

Ejemplo 2. Generación y selección de anticuerpos biespecíficos dependientes de linfocitos T (TDB)

Una estrategia para abordar el alto potencial citotóxico de los linfocitos T a la hora de erradicar células tumorales ha sido el uso de anticuerpos biespecíficos dependientes de linfocitos T (TDB). Se han comunicado respuestas clínicas prometedoras con moléculas tales como blinatumomab dirigido a linfocitos B, el anticuerpo BiTE biespecífico para CD19/CD3. Sin embargo, el potencial terapéutico de muchas modalidades de anticuerpo biespecífico comunicadas se ha visto limitado por problemas que incluyen una farmacocinética (PK) desfavorable, toxicidad y/o problemas de producción. Por consiguiente, los presentes inventores generaron y caracterizaron inicialmente anticuerpos TDB anti-CD3 que tienen diversas combinaciones de brazos anti-CD3 y de antígeno antitumoral (por ejemplo, anti-CD20, anti-FcRH5, anti-HER2, anti-LYPD1, anti-LY6E, anti-LY6G6D, anti-PMEL17, anti-CD19, anti-CD22, anti-CD33, anti-CD79A, anti-CD79B, anti-EDAR, anti-GFRA1, anti-MRP4, anti-RET, anti-Steap1, anti-TenB2), producidos como

anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal. Inesperadamente, los presentes inventores observaron que combinaciones particulares (pares) de brazos anti-CD3 y anti-antígeno tumoral dieron como resultado TDB que mostraban actividad favorable con respecto a otros TDB.

5 Los anticuerpos TDB se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal en forma de una IgG1 humana, como se ha descrito anteriormente (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Los medios anticuerpos se expresaron o bien en *E. coli* o en células de ovario de hámster chino (CHO), se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A y se hibridaron los pares de medios anticuerpos adecuados *in vitro* como se ha descrito anteriormente (Spiess et al., Nat. Biotechnol. 2013). En caso de llevarse a cabo la producción del anticuerpo

10 TDB en células CHO, el anticuerpo puede incluir una mutación de aglucosilación, por ejemplo, en el resto N297 (por ejemplo, N297G), de tal forma que el anticuerpo TDB era una variante sin función efectora y era incapaz de iniciar la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). La figura 15 muestra una descripción general esquemática de la producción del TDB para CD3/CD20.

15 Después de la hibridación, los TDB para CD3/CD20 se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y se caracterizaron mediante filtración en gel analítica, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida. Los anticuerpos purificados corrieron como un solo pico (>99 % de la señal) en la filtración en gel con menos de un 0,2 % de agregados. No se detectaron homodímeros mediante espectrometría de masas. Los brazos de anti-CD20 evaluados en la generación de los TDB para CD3/CD20 incluyeron 2H7v16, 2H7v114, 2H7v511 y GA101.

20 Los brazos de anti-CD3 evaluados en la generación de los TDB para CD3/CD20 incluyeron UCHT1v1, UCHT1v9, UCHT1vM1, 72H6, 13A3, 30A1, 41D9a, SP34v52, 40G5c, 38E4v1-38E4v9, 21B2, 125A1 y 21A9. Se evaluó la unión a CD3 de los TDB para CD3/CD20, así como su actividad, evaluada mediante ensayos de eliminación de linfocitos B y ensayos de activación de linfocitos T *in vitro*.

25 A. Afinidad de unión

Se evaluaron las afinidades de unión para cada uno de los TDB para CD3/CD20 mediante análisis Biacore o FACS, como se ha descrito anteriormente para los anticuerpos anti-CD3. En resumen, para los ensayos de unión Biacore, se inmovilizó CD3εy humano en una microplaca sensora CM5 Biacore serie S usando el kit de acoplamiento de amina de Biacore y los TDB para CD3/CD20 o las variantes Fab de los mismos en el flujo pasante. Para los análisis de unión de FACS, se incubaron o bien células Bjab (para antígenos de linfocitos B) o células Jurkat (para el antígeno CD3) con diversas concentraciones de anticuerpos TDB a 4 °C durante 30 minutos, después, las células se lavaron y se incubaron con un 2.º anticuerpo (anti-hulgG-PE; BD Bioscience) durante otros 15 minutos, antes de lavarse nuevamente las células y estuviesen listas para el análisis FACS. La figura 16 muestra los resultados de los ensayos

30 de unión de FACS *in vitro* de los TDB para CD3/CD20. Los resultados demuestran que algunas combinaciones particulares del brazo de anticuerpo anti-CD3 y el brazo de anti-antígeno tumoral (por ejemplo, brazo anti-CD20) dan como resultado anticuerpos TDB con propiedades de unión más favorables. La figura 17 muestra las afinidades de unión monovalentes y bivalentes para estos TDB para CD3/CD20 particulares. El emparejamiento particular de 2H7v16 con brazos anti-CD3 (por ejemplo, UCHT1v9), por ejemplo, dio como resultado un TDB para CD3/CD20 que

40 mostró una unión inesperadamente fuerte a células tanto Bjab como Jurkat en comparación con los otros TDB para CD3/CD20 ensayados que tenían diferentes brazos anti-CD20. También se evaluó la afinidad de unión otros TDB para CD3/CD20 que tienen un brazo anti-CD20 de 2H7v16 y diversos brazos anti-CD3 (véanse las figuras 18-24).

45 B. Ensayos *in vitro* de eliminación de linfocitos B y de activación de linfocitos T

También se evaluó la capacidad de los TDB para CD3/CD20 generados para soportar la eliminación de linfocitos B y la activación del efecto citotóxico de linfocitos T. En estos ensayos, se obtuvieron líneas celulares de tumores de linfocitos B (Bjab) de la ATCC y se aislaron PBMC de sangre completa de donantes sanos mediante separación de Ficoll. En caso de necesitarse, se separaron los linfocitos T CD4+ y T CD8+ con kits de Miltenyi de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se cultivaron en RPMI1640 suplementado con FBS al 10 % (Sigma-Aldrich) a 37 °C en una estufa de incubación de cultivo celular convencional humidificada. Para los ensayos de eliminación de células Bjab, se incubaron 20.000 células Bjab con células efectoras o bien como huPBMC o como linfocitos T purificados a las relaciones indicadas por el ensayo, en presencia de diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante un periodo de tiempo como se indica en el ensayo. Para los ensayos de eliminación de linfocitos B endógenos,

50 se incubaron 200.000 huPBMC con diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante las horas indicadas por el ensayo. Al final de cada ensayo, los linfocitos B vivos se seleccionaron como linfocitos B PI-CD19+ o PI-CD20+ mediante FACS y se obtuvo el recuento celular absoluto con perlas de FITC añadidas a la mezcla de reacción como control interno de recuento. El % de eliminación celular se calculó basándose en los controles no tratados con TDB. Los linfocitos T activados se detectaron mediante la expresión superficial de CD69 y CD25.

60 Las diversas eficacias de los anticuerpos TDB generados con biespecificidad por CD3 y una segunda molécula biológica (en este caso, CD20), destacan las contribuciones críticas e impredecibles de ambos brazos de anticuerpo en la generación de un TDB a modo de ejemplo que posee alta eficacia (véanse las figuras 25-49).

65 Ejemplo 3. Caracterización de TDB para CD3/CD20 a modo de ejemplo (TDB para CD20)

Los presentes inventores caracterizaron adicionalmente dos de los TDB para CD3/CD20 a modo de ejemplo (TDB para CD20) descritos anteriormente, que mostraron alta eficacia en los ensayos de eliminación de linfocitos B y los ensayos de activación de linfocitos T *in vitro*. El brazo para CD20 de cada anticuerpo TDB fue el clon de anti-CD20 2H7.v16 (véase la figura 50), mientras que el brazo para CD3 fue el clon UCHT1v9 (véase, por ejemplo, Zhu et al. Int. J. Cancer. 62: 319-324, 1995) o el clon 40G5c con reactividad cruzada con cino (véase, por ejemplo, la figura 51), que comparte actividades comparables.

Materiales y métodos

A. Producción de anticuerpos

Los anticuerpos biespecíficos dependientes de linfocitos T (TDB) se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal en forma de una IgG1 humana, como se ha descrito anteriormente (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Los medios anticuerpos se expresaron en *E. coli* y por lo tanto, estaban aglucosilados, se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A y se hibridaron los pares de medios anticuerpos adecuados *in vitro* como se ha descrito anteriormente (Spiess et al., Nat. Biotechnol. 2013). Después de la hibridación, los anticuerpos se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y se caracterizaron mediante filtración en gel analítica, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida. Los anticuerpos purificados corrieron como un solo pico (>99 % de la señal) en la filtración en gel sin agregados detectables (figura 52A) y no se detectaron homodímeros mediante espectrometría de masas (figura 52B).

B. Ensayos *in vitro* de eliminación de linfocitos B y de activación de linfocitos T

Se obtienen líneas celulares de linfocitos B de la ATCC y se aislaron PBMC de sangre completa de donantes sanos mediante separación de Ficoll. Se separaron los linfocitos T CD4+ y T CD8+ con kits de Miltenyi de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se cultivaron en RPMI1640 suplementado con FBS al 10 % (Sigma-Aldrich). Para los ensayos de eliminación de linfocitos B, los linfocitos B vivos se seleccionaron como linfocitos B PI-CD19+ mediante FACS y se obtuvo el recuento celular absoluto con perlas de FITC añadidas a la mezcla de reacción como control interno de recuento. Los linfocitos T activados se detectaron mediante la expresión superficial de CD69 y CD25. La inducción de granzima B intracelular se detectó mediante FACS. La concentración de perforina en el medio se detecta mediante ELISA (eBioscience). Todos los anticuerpos se adquirieron de BD Bioscience.

C. Estudios de eficacia *in vivo* en modelos murinos

Se adquirieron ratones NSG y SCID humanizados de Jackson Labs. Se produjeron ratones transgénicos para CD20 humano y ratones transgénicos para CD3 humano como se ha descrito anteriormente (Gong et al. J. Immunol. 174: 817-826, 2005 y de la Here et al. J. Exp. Med. 173: 7-17, 1991) y se produjeron ratones doble transgénicos para CD20/CD3 mediante cruzamiento de los dos ratones transgénicos para un solo rasgo. Los modelos de ratón de linfoma humano se generaron inyectando 5×10^6 células Bjab-luciferasa solas o mezcladas con 10×10^6 PBMC de donante humano en HBSS por vía subcutánea en los flancos derechos de 40 ratones hembra. Los ratones fueron tratados por vía intravenosa con vehículo o con 0,5 mg/kg de TDB para CD20 una hora después de la inoculación y una semana después del tratamiento inicial. Los tumores se midieron 1-2 veces a la semana y los pesos corporales se midieron dos veces a la semana hasta 7 días después del tratamiento final. En caso de no observarse pérdida de peso, se dejaron de registrar los pesos para un animal dado. En caso de que la pérdida de peso fuese mayor de un 15 % del peso corporal total, los ratones afectados se pesaron a diario y se sacrificaron (o se remitieron al personal veterinario para su observación) en caso de que la pérdida de peso fuese mayor del 20 %. Se llevaron a cabo observaciones clínicas dos veces a la semana durante la duración del estudio para monitorizar la salud de los animales; se sacrificó a cualquier animal con un tumor de un tamaño o condición que pudiera interferir con la salud o la actividad del animal. De otro modo, se sacrificó a los animales 6 meses después del tratamiento del tumor o en caso de que se ulcerase el tumor o su volumen superase 2500 mm³.

Se generaron modelos de ratón de leucemia linfocítica crónica (CLL) procedentes de pacientes como se ha descrito anteriormente (Bagnara et al. Blood. 117: 5463-5472, 2011). En resumen, se purificaron 5×10^5 linfocitos T activados de PBMC de CLL y se inyectaron por vía retroorbital en ratones NSG. Después del injerto de linfocitos T, se inyectaron 2×10^7 PBMC de CLL por vía retroorbital. Después de 14 días, se confirmó la circulación de linfocitos B y T trasplantados mediante análisis FACS. Los animales injertados con éxito se trataron posteriormente 3,5 semanas después con anticuerpos TDB administrados por vía intravenosa mediante inyección en la vena caudal. Los animales fueron sacrificados 6 o 14 días después del tratamiento. Se recogió sangre completa mediante punción del seno retroorbital usando pipetas heparinizadas y se transfirió inmediatamente a tubos heparinizados, mientras los animales se mantenía bajo anestesia o mediante punción cardíaca terminal, con una jeringa heparinizada después del sacrificio con CO₂. Se recogieron los bazo después del sacrificio con CO₂. Para cada estudio, se llevaron a cabo observaciones clínicas dos veces a la semana para monitorizar la salud de los animales. Se registraron los pesos corporales de los animales al menos una vez a la semana. Las PBMC se aislaron después de la lisis de glóbulos rojos y se analizaron mediante FACS seleccionando linfocitos B (muCD45+CD19+) y linfocitos T (muCD90.2+CD4+ o muCD90.2+CD8+). Todos los anticuerpos usados se adquieren o bien de BD Biosciences o de eBiosciences.

D. Estudio PK/PD en monos cinomolgos

Todos los estudios en monos cinomolgos se llevaron a cabo usando monos cinomolgos criados expresamente, no sometidos a experimentación, de origen chino. Para el estudio PK/PD de una sola dosis, se administró a 3 monos cinomolgos macho una sola dosis IV por infusión intravenosa lenta de 1 mg/kg de TDB para CD20; para el estudio de dosis repetida, se administró a 4 monos cinomolgos una dosis por infusión IV lenta de 1 mg/kg de TDB para CD20 una vez a la semana hasta un total de 4 dosis. La sangre completa o los tejidos se recogieron en puntos de tiempo seleccionados para el recuento de linfocitos B y linfocitos T mediante FACS. Se recogió suero y se almacenó a -70°C hasta que se ensayó usando un ELISA para determinar la cantidad de artículo de ensayo en cada muestra de suero. Se usaron los perfiles de concentración sérica-tiempo de cada animal para estimar los parámetros farmacocinéticos (PK) usando el programa informático WinNonlin (Phasight; Mountain View, CA).

TDB para CD20 de alta calidad producido como IgG humanizada de longitud completa con propiedades PK de anticuerpo convencional

Para explorar las propiedades de direccionamiento que podrían afectar a la potencia de direccionamiento del TDB a linfocitos B, incluyendo la identidad del antígeno, el tamaño del dominio extracelular y la distancia del epítipo respecto de la membrana, los presentes inventores crearon más de 40 TDB diferentes dirigidos a epítopos en CD3ε, CD19, CD20, CD22, CD79a y CD79b. Los resultados representativos se muestran en la figura 56I. Los presentes inventores observaron que los TDB más potentes eran aquellos dirigidos contra antígenos diana de cáncer con dominios extracelulares (ECD) pequeños y epítopos próximos a la membrana celular. Entre las mejores dianas se encontraban CD20, CD79a y CD79b con potencias próximas a 10 ng/ml o 67 pM para la eliminación de linfocitos B de donante por linfocitos T autólogos.

El TDB anti-CD20/CD3 (CD20-TDB) se describe en este caso como una molécula de prueba de concepto que destaca la actividad farmacológica de estos TDB dirigidos a linfocitos B. Los TDB para CD20 se produjeron como IgG de longitud completa totalmente humanizadas con la arquitectura de anticuerpo natural de las bacterias, libres de homodímeros y agregados (figura 52). Las propiedades farmacocinéticas (PK) del TDB para CD20 en ratas, una especie sin unión, se asemeja a la de otros anticuerpos IgG humanos, con una semivida de aproximadamente 7 días (figura 53).

La eliminación de linfocitos B con TDB para CD20 es dependiente de linfocitos T mediante la vía de granzima-perforina

Para evaluar el TDB para CD20 como una terapia potencial para trastornos proliferativos celulares, tales como neoplasias malignas de linfocitos B CD20+, en primer lugar se investigó su mecanismo de acción como anticuerpo biespecífico de reclutamiento de linfocitos T. De manera distinta a la actividad ADCC, que es el mecanismo principal de acción para la terapia clásica con anticuerpos monoclonales, el TDB para CD20 no necesita la región Fc para su actividad. La porción F(ab')₂ del TDB para CD20 conservó la misma potencia que el TDB para CD20 de IgG de longitud completa en la eliminación de linfocitos B (figura 54A). El TDB para CD20 es un agonista condicional, que requiere expresión de la diana, linfocitos T y anticuerpo para su actividad. La actividad de eliminación de linfocitos B del TDB para CD20 es dependiente de linfocitos T, ya que no se detectó eliminación de linfocitos B con PBMC con reducción de linfocitos T CD3+ (figura 54B). Es necesaria la expresión de diana para la activación de linfocitos T, ya que la ausencia de expresión de CD20 da como resultado linfocitos T no activados (figura 54C). El TDB para CD20 es capaz de activar linfocitos T tanto CD4+ como CD8+, medidos por la inducción tanto de CD69 como de CD25 en linfocitos T (figura 54D). Puede lograrse una eliminación comparable de linfocitos B con cualquiera de los linfocitos T como efectores, aunque los linfocitos T CD8+ parecen ser más potentes a la hora de eliminar células BJAB, ya que los linfocitos T CD8+ dieron como resultado un mayor alcance de la eliminación celular que un número igual de linfocitos T CD4+ (figura 54C). Sin embargo, la regulación positiva de granzima es más prevalente en linfocitos T CD8+ (figura 54E), además de detectarse mediante ELISA mayores niveles de liberación en los medios de perforina y de las granzimas A y B (no mostradas) asociada con linfocitos T CD8+ (figura 54F). Los linfocitos T activados tienen capacidad proliferativa (figura 55). El recuento de linfocitos T general, sin embargo, no aumentó significativamente después de 24 horas en presencia de TDB para CD20 y de linfocitos B sin suplemento de citocinas *in vitro*, probablemente debido a las condiciones de cultivo. De hecho, se observó una robusta expansión de linfocitos T *in vivo* en los estudios de eficacia con modelos murinos y en monos cinomolgos (figuras 58A y 67C).

El TDB para CD20 es potente a la hora de eliminar linfocitos B de leucemia/linfoma y a la hora de eliminar linfocitos B autólogos *in vitro*

También se evaluó la potencia de eliminación de linfocitos B del TDB para CD20 con más de una docena de líneas celulares de linfocitos B de leucemia/linfoma *in vitro*. Para evaluar la potencia del CD20-TDB, se seleccionaron 8 líneas que representan células con un amplio intervalo de nivel de expresión de CD20 (figura 56B). Se muestran las curvas de eliminación de linfocitos B de respuesta a la dosis con las 8 líneas celulares, con PBMC aisladas de donante sano como células efectoras (figura 56A). De manera significativa, el CD20-TDB no tuvo actividad contra células SU-DHL1 que están desprovistas de expresión de CD20. La potencia del CD20-TDB estaba hasta cierto punto correlacionada con los diversos niveles de CD20 superficial detectados mediante citometría de flujo (56A). No obstante, el TDB para

CD20 es potente a la hora de eliminar las 8 líneas de una manera dependiente de la dosis, con una CE50 en el intervalo de 0,38 a 11ng/ml para un ensayo de 24 horas. El alcance de la eliminación celular varía en cierto modo del 60 al 90 %, con hasta 1000ng/ml de TDB en un ensayo de 24 horas (figura 56C). En general, puede lograrse una eliminación completa de linfocitos B con una mayor concentración de anticuerpo o un tiempo de ensayo extendido.

5 Las células SU-DHL-1 se incluyen en el ensayo de eliminación como control negativo de CD20, donde no se observó eliminación, lo que demuestra la necesidad de expresión de diana para la actividad del TDB para CD20. La actividad del TDB para CD20 parece requerir un nivel muy bajo de expresión de diana, ya que las células Nalm-6 y SC-1 mostradas en este caso tienen una muy baja expresión superficial de CD20 (figura 56B). La afinidad de unión monovalente a CD20 del TDB para CD20 es más débil que la afinidad de unión del anti-CD20 precursor, con una K_D de 54 nM determinada mediante Scatchard. Tomando juntos el valor de K_D y la potencia de eliminación de linfocitos B del TDB para CD20, la ocupación del receptor necesaria para la actividad del TDB para CD20 es únicamente menor del 0,1 %. Los TDB generados para dirigirse a diferentes antígenos de linfocitos B también son eficaces a la hora de mediar la eliminación de linfocitos B, como se muestra en la figura 56D, donde los TDB dirigidos a 5 antígenos diferentes de linfocitos B, incluyendo un TDB para CD20 (TDB A: 2H7v16/UCHT1v9), eliminaron de un 75 % a un 90 %

10 de los linfocitos B. Los TDB para CD20 pueden mediar además la eliminación de líneas de linfoma B adicionales con expresión de antígeno CD20 superficial variable (figura 56E).

El TDB para CD20 también es altamente potente a la hora de eliminar linfocitos B autólogos, evaluándose con PBMC humanas aisladas de sangre periférica de donantes sanos (figura 56F). En la figura 56F se muestran las curvas de eliminación de respuesta a la dosis para 8 donantes aleatorios, así como una gráfica resumen para la CE50 y el alcance de la eliminación de linfocitos B (figura 56G) con 1000ng/ml de anticuerpo en un ensayo de 24 horas para 30 donantes. De las 30 muestras ensayadas, se eliminó de un 57 a un 96 % de los linfocitos B con hasta 1000ng/ml de anticuerpo en 24 horas, con una CE50 en el intervalo de 0,43 a 135ng/ml, con una mediana del valor menor de 3ng/ml. El alcance de la eliminación de linfocitos B en 24 horas por el TDB para CD20 es muy comparable o mayor que la eliminación de linfocitos B por un scFv anti-CD3/anti-CD19 (figura 56H).

El TDB para CD20 es potente a la hora de eliminar linfocitos B *in vivo* en modelos murinos

Ya que el TDB para CD20 ensayado no reconoce los antígenos CD20 y CD3 murinos, los presentes inventores aprovecharon los ratones transgénicos para CD20 humano y CD3 humano (descritos anteriormente) para producir ratones doble transgénicos para CD3/CD20 humano para los posteriores estudios de eficacia *in vivo*. Como se muestra en la figura 57A, los ratones doble transgénicos para CD3/CD20 humano expresan huCD3 ϵ en la superficie de linfocitos T CD4+ y CD8+, además de huCD20 en la superficie de linfocitos B CD19+ a niveles detectables, en comparación con linfocitos T y B de origen humano. Con los ratones transgénicos para CD20 humano, solo rituximab es capaz de reducir los linfocitos B, ya que el TDB para CD20 no puede acoplarse a linfocitos T murinos sin expresión de CD3 humano (figura 57B). Sin embargo, con ratones doble transgénicos para CD3/CD20 humano, el TDB para CD20 es capaz de acoplarse a linfocitos T que expresan huCD3 y es potente a la hora de reducir los linfocitos B murinos que expresan huCD20 (figura 57C). El TDB para CD20 parece ser más potente a la hora de reducir los linfocitos B *in vivo*, ya que se detectan menos linfocitos B en bazo de ratón 7 días después de una sola dosis IV de TDB para CD20 a 0,5 mg/kg, en comparación con después de una sola dosis de rituximab a 10 mg/kg. Un TDB para HER2, que tiene el mismo brazo para CD3 mientras que el otro brazo se une a HER2, se usó en este caso como control de isotipo y no mostró actividad de citorreducción.

Para explorar la dosis mínima eficaz del TDB para CD20 a la hora de reducir los linfocitos B con ratones doble transgénicos para CD3/CD20 humano, se trató a los ratones con una sola dosis de TDB para CD20, comenzando a 0,5 mg/kg hasta 0,00005 mg/kg. Después, se monitorizó el recuento de linfocitos B en D1 (24 horas después de la dosis), D8 y D15. Se observó un recuento reducido de linfocitos B en D1 y la reducción de linfocitos B se mantuvo hasta D15 después del tratamiento con TDB para CD20 (figura 58A). De manera consistente con esta observación de recuento de linfocitos B en sangre, se logró una reducción prácticamente completa de linfocitos B en bazo de ratón en el D7 después de una sola dosis de 0,5 mg/kg, mientras que una dosis menor de 0,05 mg/kg dio como resultado una reducción parcial de linfocitos B de bazo y se aproximó al nivel de dosis de DE50 (figura 58B). Un estudio de transcurso temporal con los ratones doble transgénicos reveló que la reducción de linfocitos B es prácticamente completa en bazo tan pronto como 3 días después del tratamiento con una sola dosis a 0,5 mg/kg, sin signos significativos de recuperación de los linfocitos B hasta D14 (figura 58A). Como se observa en la figura 58C, el TDB para CD20 media la reducción de linfocitos B en la sangre periférica de dobles transgénicos para huCD20/huCD3, que se detecta en la sangre tan pronto como dos horas después del tratamiento y se mantiene durante hasta siete días después del tratamiento. Además, los linfocitos T CD8+ y CD4+ son detectables en la sangre a las dos horas de la administración de TDB para CD20 y después se reducen dos días después del tratamiento (figura 58D).

Además, el TDB para CD20 redujo los linfocitos B de la zona marginal (MZB) (figura 59A y figura 59B) con la misma eficiencia que linfocitos B foliculares (FOB) (figura 59A y figura 59C) en bazo de ratón, después de una sola dosis IV de 0,5 mg/kg. Los presentes inventores observaron que los linfocitos B de bazo se redujeron en ~50 % con respecto del valor inicial en el día 1 (24 horas después de la dosis) y continuaron reduciéndose rápidamente hasta alcanzar un mínimo en el día 3 que se mantuvo a lo largo del estudio. Esto es aparentemente diferente a informes previos con rituximab, donde se cree que el microambiente desempeña un papel en la eficacia de rituximab, lo que sugiere un modo de acción diferente para el TDB para CD20 *in vivo* que para rituximab. Normalmente se observa activación de

linfocitos T murinos tan pronto como 30 minutos después del tratamiento con TDB para CD20 en sangre y principalmente, en las primeras 24 horas en el bazo (figuras 59D y 59E). Después de la activación de linfocitos T, se observó un aumento en el recuento de linfocitos T aproximadamente en D2-D3 (figuras 59D y 59E), como resultado de la proliferación celular. En el día 2, la mayoría de linfocitos T dejaron de ser positivos para CD69, aunque los niveles de CD69+CD8+ continuaron en el intervalo del 10-30 % durante el resto del estudio de dos semanas. Sin embargo, posiblemente debido a la muerte celular inducida por activación, el recuento de linfocitos T tiende a reducirse después de la fase de expansión. Eventualmente, el recuento de linfocitos T se recuperará después del tratamiento con TDB, lo que sugiere la ausencia de efecto inhibidor en el tratamiento con TDB para CD20 en la regeneración de linfocitos T murinos.

También se usaron ratones NSG humanizados para validar adicionalmente la potencia del TDB para CD20 en la reducción de linfocitos B en modelos murinos y en una situación de dosis repetida. Los ratones reales reclutados en el estudio mostrado en las figuras 60A-60D tuvieron un 35-80 % de células CD45+ humano en sangre periférica y el intervalo de células CD4+, CD8+ y CD20+ fue del 12-25, 2,1-8,7 y 32-60 %, respectivamente (porcentaje comunicado como selección entre leucocitos viables). Los ejemplos representativos de esta caracterización inicial se muestran en la figura 60E. Se compararon los niveles de antígenos diana CD3 y CD20 de estos ratones con los de donantes humanos normales y se observó que no eran significativamente diferentes (figura 60F). Como se muestra en la figura 59, los ratones NSG humanizados se trataron con 3 dosis semanales de TDB para CD20 a 0,5 mg/kg. Los linfocitos B se redujeron en sangre en D7, sin apenas detectarse linfocitos B en D21 (figura 60A). También se observó una robusta reducción de linfocitos B en bazos de los ratones tratados con TDB en D21 (figura 60B). Además, el tratamiento de ratones NSG humanizados con TDB para CD20 estimuló la proliferación de linfocitos T y ocasionó la reducción de linfocitos B, como se muestra en la figura 60C. Para linfocitos T CD8+, sus recuentos celulares aumentaron hasta 10 veces en sangre en D7 y volvieron al valor inicial o menor en D14 y D21 (figura 60D). También se observó una tendencia similar para linfocitos T CD4+.

El TDB para CD20 es potente para eliminar linfocitos B de CLL *in vitro* e *in vivo*

Los presentes inventores también evaluaron la potencia del TDB para CD20 en la eliminación de linfocitos B de leucemia con linfocitos T autólogos de pacientes con CLL, donde la carga tumoral B es normalmente alta, mientras que el recuento de linfocitos T es bajo y la función de linfocitos T puede verse potencialmente comprometida (Riches et al., Semin. Cancer Biol. 20(6): 431-438, 2010). Se incubaron PBMC aisladas de sangre periférica de nueve pacientes de CLL con una sola dosis elevada de 1000 ng/ml de TDB para CD20 durante hasta 48 horas. Como se muestra en la figura 61A, el TDB para CD20 es potente a la hora de eliminar linfocitos B de CLL con linfocitos T autólogos. Para las 2 muestras mostradas, la carga tumoral de leucemia B es del 70 % con un 8,4 % de linfocitos T CD8+ en las PBMC para la muestra de paciente n.º 1 y del 80 % con un 4,4 % de linfocitos T CD8+ para la muestra de paciente n.º 2. Aparentemente, el TDB para CD20 puede lograr una eficiente eliminación de linfocitos B con relaciones de efector a diana muy bajas (1:8 y 1:18 con las 2 muestras mostradas en este caso). La eliminación de linfocitos B de CLL con linfocitos T autólogos por el TDB para CD20 está altamente correlacionada con el recuento de linfocitos T CD8+ (figura 61B). Los presentes inventores observaron que el contenido de linfocitos T varió significativamente (entre un 0,4 y un 8 % de células mononucleadas) y sorprendentemente, se observó que el alcance de la citólisis de linfocitos B en comparación con los valores antes del tratamiento estaba altamente correlacionado con el contenido de linfocitos T. Al suplementar los linfocitos T CD8+ purificados con PBMC de CLL, donde hay muy pocos linfocitos T autólogos disponibles, se eliminaron eficientemente los linfocitos B de leucemia por el TDB para CD20 de una manera dependiente de linfocitos T (figura 61C).

El TDB para CD20 también es potente para eliminar células de leucemia de CLL injertadas en ratones (figura 62A). En resumen, se injertaron en ratones NSG células de leucemia de pacientes después del injerto de linfocitos T activados autólogos procedentes de pacientes y el tratamiento se inicia después de confirmarse el establecimiento del injerto de leucemia. La tinción IHC de los ejemplos representativos de bazos de ratón mostraron un injerto exitoso de linfocitos B de leucemia y linfocitos T autólogos de pacientes de CLL en ratones NSG. Después de una sola dosis de tratamiento con CD20-TDB a 0,1 o 0,5 mg/kg, se pudieron detectar pocos linfocitos B. También se observó reducción de linfocitos B con el tratamiento con rituximab, mientras que no se detecta reducción de linfocitos B con HER2-TDB como un control de isotipo. (Figura 62B).

En el contexto de la progresión tumoral, el tratamiento con TDB para CD20 es eficaz para prevenir el crecimiento de tumores de linfoma de linfocitos B en presencia de PBMC de donante humano. Los ratones SCID (con inmunodeficiencia combinada severa) con trasplante de células B_h humanas desarrollaron tumores detectables cuando se trataron con vehículo o con solo TDB para CD20 en el día 12 después de la inoculación. Además, el trasplante solo de PBMC retrasó el recrecimiento tumoral, pero estos ratones desarrollaron tumores detectables en el día 25 después de la inoculación. Por tanto, el TDB para CD20 también es eficaz a la hora de prevenir el crecimiento tumoral *in vivo* en presencia de células efectoras PBMC (figura 63).

La potencia de TDB para CD20 requiere un muy bajo nivel de expresión de CD20

Además de la diferente necesidad de la región Fc de anticuerpo para la actividad del TDB para CD20 en comparación con un anti-CD20 convencional y posiblemente la diferente dependencia del microambiente tumoral, el TDB para CD20

también parece necesitar un menor nivel de expresión de antígeno para una eficiente eliminación de linfocitos B. Para células Bjab, que tienen un alto nivel de expresión de CD20 (figura 64A), se logró una eliminación celular comparable con rituximab y TDB para CD20 (figura 64B). Sin embargo, las células Nalm-6, SC-1 y OCI-Ly19 con un nivel de expresión de CD20 muy reducido (figura 64A) se eliminaron únicamente por el TDB para CD20, mientras que no se detectó eliminación celular con rituximab (figura 64C). El número estimado de copias de CD20 para estas líneas celulares con baja expresión de CD20 es menor de 500, basándose en los datos de unión de Scatchard y FACS en comparación con células BJAB (datos no mostrados). Además, la afinidad de unión monovalente del CD20-TDB por CD20 es de -50-100 nM, significativamente menor de la afinidad de 1-5 nM de rituximab (ambos medidos mediante Scatchard). En conjunto, la potencia del CD20-TDB es consistente con la intuición de que la activación del TCR requiere tan solo una baja ocupación del receptor de 10-100 moléculas (Purbhoo, M.A., et al. Nat Immunol 5:524-530, 2004; Irvine, D.J., et al. Nature 419:845-849, 2002; Sykulev, Y., et al. Immunity 4:565-571, 1996).

El TDB para CD20 es activo en presencia de rituximab y esteroides

La que rituximab y su combinación con quimioterapia se usan ampliamente en el tratamiento de neoplasias malignas de linfocitos B en la práctica clínica, es importante explorar cómo puede usarse el TDB para CD20 en este contexto, ya que el TDB para CD20 y rituximab se dirigen al mismo antígeno. Los presentes inventores aprovecharon rituximab-DANA, una variante de rituximab sin función efectora (rituximab que contiene en los restos 265 y 297 a alanina (las mutaciones DANA se describen en las Patentes de los Estados Unidos n.º 7.332.581 y 8.219.149)), que solo se une a CD20 sin actividad de eliminación de linfocitos B, evaluado en ratones doble transgénicos para CD20/CD3 humano (figura 64D). El pretratamiento de las células diana de linfocitos B de donante con esta molécula de rituximab inerte que compite con la unión del CD20-TDB tuvo un efecto notablemente mínimo en la anulación de la actividad del CD20-TDB. A concentraciones de hasta 250 µg/ml de rituximab-DANA (un exceso de 5000 veces con respecto al nivel de dosis de CE50 de 42ng/ml), los presentes inventores observaron cambios tan solo modestos en las curvas de respuesta a la dosis *in vitro* (cambio menor de 7 veces en la CE50, 42 frente a 320 ng/ml). De manera notable, el TDB para CD20 sigue siendo activo en esta situación. Aunque la CE50 para el CD20-TDB aumentó hasta ~7 veces mayor que la concentración de rituximab-DANA, el alcance de la eliminación de linfocitos B no cambia significativamente (figura 65A). Esto es consistente con los hallazgos previos de los presentes inventores de que se necesita un nivel de expresión de antígeno muy bajo o una ocupación del receptor muy baja para la potencia del TDB para CD20. Las observaciones *in vitro* se recapitularon *in vivo* en ratones transgénicos duales para CD3/CD20 que se pretrataron con 2 o 10 mg/kg de la proteína rituximab-DANA y posteriormente se les expuso al CD20-TDB. En el presente caso, se demuestra *in vivo* que el TDB para CD20 sigue siendo activo a la hora de reducir los linfocitos B en ratones pretratados con rituximab-DANA (figura 66). Estos resultados indican gran versatilidad en posibles terapias combinadas para neoplasias malignas de linfocitos B.

El TDB para CD20 es un anticuerpo reclutador de linfocitos T y su potencia es dependiente de la activación de linfocitos T. También se exploró para observar si el pretratamiento con esteroides, que potencialmente podría tener un impacto en la respuesta inmunitaria de linfocitos T, afectaría a la actividad del TDB para CD20. *In vitro*, el TDB para CD20 seguía siendo activo en la eliminación de linfocitos B en presencia de una alta concentración de dexametasona (figura 65B).

Validación preclínica del TDB para CD20 como una potente terapia para las neoplasias malignas de linfocitos B CD20+ en monos cinomolgos

También se llevó a cabo un estudio piloto de PKPD con el TDB para CD20 en monos cinomolgos. En un estudio de una sola dosis, donde se trató una vez a 3 animales por vía intravenosa con 1 mg/kg de TDB para CD20, se observó una reducción completa de linfocitos B en la sangre (figura 67A), así como en los bazo y ganglios linfáticos (figuras 67B y 67C), 7 días después del tratamiento con anticuerpos. Los históricos de controles de vehículo se muestran como la media y desviación típica de 4 animales tratados con vehículo (figura 67D). No se observó una pérdida evidente de linfocitos T, la que tanto los linfocitos T CD8+ como los linfocitos T CD4+ se encontraban a un nivel comparable o mayor que en los controles, cuando se calculó como el % de linfocitos. Se detectó activación de linfocitos T en sangre 4 horas después de la administración. No se observó pérdida de linfocitos T y se detectó un recuento aparentemente mayor de linfocitos T CD8+ en sangre 7 días después del tratamiento (figura 67A).

También se evaluó el efecto a largo plazo del tratamiento con TDB para CD20 en células inmunitarias con un estudio de dosis repetida de 4 semanas seguido de un periodo de recuperación de 8 semanas. En sangre de 4 animales tratados con una dosis semanal de 1 mg/kg, se midieron los recuentos de linfocitos B y T, así como la concentración sérica de TDB para CD20 y se representaron para cada animal individual a lo largo de 77 días (figura 68A). En los 4 animales, no se detectaron linfocitos B en sangre poco después del tratamiento y no reaparecieron en tanto que la concentración sérica de TDB para CD20 permaneció por encima de 100 ng/ml (animal 4502 frente a los animales 4001, 4002 y 4503). Los recuentos de linfocitos T CD8+, así como los de linfocitos T CD4+ en menor medida, aumentaron significativamente después de la primera dosis y gradualmente volvieron a entre un 25-150 % de los valores iniciales. En conjunto, el TDB para CD20 es altamente activo a la hora de reducir linfocitos B, sin comprometer a los linfocitos T.

En la figura 68B también se resumen las propiedades PK del TDB para CD20, midiéndose la concentración sérica del

TDB para CD20 de ambos estudios. Como se demuestra para el estudio de dosis repetida, el TDB para CD20 mantuvo una buena exposición durante todo el periodo, con CL a aproximadamente 17 ml/día/kg durante la primera dosis (D0-D7). La eliminación mediada por diana parece ser mayor durante la primera dosis (D0-D7), ya que el valor de CL se redujo a aproximadamente 6 ml/día/kg durante la cuarta dosis (D21-28).

Combinación de TDB para CD20 con antagonista de PD-L1 en un modelo de tumor singénico

También se evaluó la eficacia *in vivo* de un TDB para CD20 en combinación con un antagonista de PD-L1 (un anticuerpo anti-PD-L1 de isotipo IgG2a murino, 25A1, con mutaciones DANA) en un modelo de tumor singénico. En este estudio, se utilizaron linfocitos B de linfoma de ratón A20-huCD20 que expresan CD20 humano y PD-L1 de ratón en su superficie para generar un modelo de tumor singénico (véase, por ejemplo, la figura 69A). El TDB para CD20 usado fue un TDB 2H7v16/2C11 de isotipo IgG2a murino producido en formato de botón en ojal (K&H) (véase, por ejemplo, Atwell et al., J Mol Biol., 270:26-35, 1997), en donde el brazo de "botón" es 2H7v16 anti-CD20 y el brazo de "ojal" es 2C11 anti-CD3 (Leo et al., Proc Natl Acad Sci USA, 84:1374-8, 1987). El antagonista de PD-L1 usado fue un anticuerpo anti-PD-L1 de isotipo IgG2a con mutaciones de Fc DANA (sustitución de los restos 265 y 297 a alanina; véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 7.332.581 y 8.219.149).

En el día -7, se inoculó por vía subcutánea en el área torácica unilateral derecha de 65 ratones Balb/C 2,5 millones de células A20pRK-CD20-GFP en HBSS en un volumen de 100 µl (para no superar 200 µl). Se dejó que los ratones desarrollasen tumores. Posteriormente, se pesaron y midieron los ratones 1-2 veces a la semana hasta que los tumores alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 100-200 mm³ (aproximadamente 7 días después de la inoculación). Después, se dividieron los animales en los cuatro grupos de tratamiento a continuación: Grupo 1: 2,5 millones de A20/CD20, Vehículo, qwx3, IV, n=9; Grupo 2: 2,5 millones de A20/CD20, TDB anti-CD20xCD3 K&H (IgG2 murina 2H7v16-2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV, n=9; Grupo 3: 2,5 millones de A20/CD20, aPDL1 (25A1, mlgG2a DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP, n=9; y Grupo 4: 2,5 millones de A20/CD20, aPDL1 (25A1, mlgG2a DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP + TDB anti-CD20xCD3 K&H (IgG2 murina 2H7-2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV, n=9. Se sacrificó a los ratones no reclutados en uno de los grupos de tratamiento anteriores debido a un volumen tumoral disímil. El tratamiento comenzó en el día 0 y todas las dosis de anticuerpo se llevaron a cabo por vía intravenosa en un volumen de 100 µl, como se ha descrito anteriormente.

Los tumores se midieron 1-2 veces a la semana. Los pesos corporales se midieron dos veces a la semana hasta 7 días después del tratamiento final. En caso de no observarse pérdida de peso, se dejaron de registrar los pesos. En caso de que la pérdida de peso observada fuese >15 %, los ratones afectados se pesaron a diario y se sacrificaron en caso de que la pérdida de peso fuese mayor o igual al 20 %. Durante todo el estudio, se llevaron a cabo observaciones clínicas dos veces a la semana para monitorizar la salud de los animales y se sacrificó a cualquier animal con un tumor que tuviese un tamaño o condición que pudiera interferir con la salud o actividad del animal.

Como se representa en la figura 69B, el tratamiento combinado de TDB para CD20 con el anticuerpo anti-PD-L1 (grupo 4) mostró un efecto inesperado y sinérgico a la hora de inhibir el crecimiento tumoral cuando se comparó con el tratamiento con TDB para CD20, el anticuerpo anti-PD-L1 o solo vehículo.

Combinación de TDB para CD20 con antagonista de PD-1 en un modelo de tumor singénico

Adicionalmente, también se evaluó la eficacia *in vivo* de un TDB para CD20 en combinación con un antagonista de PD-1 (un anticuerpo anti-PD1 de isotipo IgG2 murino, 8F11, con mutaciones DANA) en el modelo de linfoma B singénico A20/huCD20 de ratón. En este estudio, el TDB para CD20 usado fue un TDB 2H7v16/2C11 de isotipo IgG2a murino y el antagonista de PD-1 usado fue un anticuerpo anti-PD-1 de isotipo IgG2 murino con mutaciones DANA de Fc.

Se transfectaron células de linfoma B de ratón A20 para que expresasen CD20 y GFP y posteriormente, se clasificaron en células individuales para la selección clonal y la expansión para su implante. Se inoculó por vía subcutánea a ratones Balb/C hembra (Charles River; Hollister, CA) de 8-10 semanas de edad en la región torácica unilateral derecha 2,5 millones de células A20.hCD20-GFP. Cuando los tumores alcanzaron un volumen tumoral medio de 100-200 mm³, se reclutaron los ratones y se asignaron aleatoriamente a uno de cuatro grupos de tratamiento (n=9 ratones/grupo) y se comenzó el tratamiento con anticuerpo al día 1 siguiente: Grupo 1 (2,5 millones de A20/CD20, vehículo, qwx3, IV); Grupo 2 (2,5 millones de A20/CD20, TDB anti-CD20xCD3 K&H (IgG2 murina 2H7v16-2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV); Grupo 3 (2,5 millones de A20/CD20, anti-PD1 (8F11, mlgG2a DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP); y Grupo 4 (2,5 millones de A20/CD20, anti-PD1 (8F11, mlgG2a DANA), 10 mg/kg, tiwx3, IP + TDB anti-CD20xCD3 K&H (IgG2 murina 2H7v16-2C11), 0,5 mg/kg, qwx3, IV).

Los ratones fueron tratados con vehículo o TDB para CD20 a 0,5 mg/kg semanalmente por vía IV durante 3 semanas y/o anticuerpo anti-PD-1 a 10 mg/kg por vía IV para la primera dosis, seguido de administración IP 3 veces a la semana durante 3 semanas. (N=9 ratones/grupo)

Como se representa en las figuras 108A y 108B, el tratamiento combinado de TDB para CD20 con el anticuerpo anti-PD-1 (grupo 4) mostró un efecto inesperado y sinérgico a la hora de inhibir el crecimiento tumoral cuando se comparó

con el tratamiento con TDB para CD20, el anticuerpo anti-PD-1 o solo vehículo.

Ejemplo 4. Generación y caracterización de TDB para CD3/FcRH5 a modo de ejemplo (TDB para FcRH5)

- 5 Los presentes inventores también exploraron la capacidad de los anticuerpos TDB para reclutar las actividades citotóxicas de los linfocitos T a la hora de erradicar células tumorales mediante el reconocimiento de un antígeno de la superficie celular diferente, FcRH5. Con este fin, se generaron y caracterizaron anticuerpos anti-CD3 biespecíficos que tienen un brazo de anti-CD3 y un brazo de anti-FcRH5 (TDB para FcRH5). Como se ha descrito anteriormente, Los TDB para FcRH5 se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal en forma de una IgG1 humana, como se ha descrito anteriormente (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Los medios anticuerpos se expresaron en *E. coli*, se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A y se hibridaron los pares de medios anticuerpos adecuados *in vitro* como se ha descrito anteriormente (Spiess et al., Nat. Biotechnol. 2013). Después de la hibridación, los TDB para FcRH5 se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) y se caracterizaron mediante filtración en gel analítica, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida, como se ha descrito anteriormente. El brazo anti-FcRH5 usado en la generación de los TDB para FcRH5 fue el del anticuerpo anti-FcRH5 1G7, que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 268 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 269. Los brazos anti-CD3 evaluados en la generación de TDB para FcRH5 incluyeron UCHT1v9, 40G5c y 38E4v1.
- 10
- 15
- 20 Se evaluó la unión de los TDB para FcRH5 específicos a linfocitos T CD8+ (unión a CD3), así como su actividad, evaluada mediante ensayos de citotoxicidad y ensayos de activación de linfocitos T *in vitro*.

A. Afinidad de unión

- 25 Las afinidades de unión para cada uno de los TDB para FcRH5 se evaluó mediante análisis FACS, como se ha descrito anteriormente para los TDB para CD20. En resumen, para los ensayos de unión de FACS, se incubaron linfocitos T CD8+ con diversas concentraciones de anticuerpos TDB para FcRH5 a 4 °C durante 30 minutos, después, las células se lavaron y se incubaron con un 2.º anticuerpo (anti-hulgG-PE; BD Bioscience) durante otros 15 minutos, antes de lavarse nuevamente las células y estuviesen listas para el análisis FACS. La figura 70 muestra los resultados de los ensayos de unión de FACS *in vitro* de los TDB para FcRH5. Los resultados demuestran que la combinación particular del brazo de anticuerpo anti-CD3, 38E4v1, emparejado con el brazo anti-FcRH5, 1G7, da como resultado un anticuerpo para FcRH5 con mayor afinidad de unión a células efectoras.
- 30

B. Ensayos *in vitro* de eliminación de células diana MOLP-2 y de activación de linfocitos T

- 35 También se evaluó la capacidad de los TDB para FcRH5 para soportar la eliminación de células diana MOLP-2 que expresan FcRH5 y la activación del efecto citotóxico de los linfocitos T. La citotoxicidad *in vitro* se monitorizó mediante citometría de flujo. Las células diana se marcaron con CFSE de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, n.º C34554). Las células diana marcadas con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) y los linfocitos T CD8+ purificados procedentes de PBMC humanas se mezclaron a una relación 3:1, con o sin TDB durante 48 horas. Las células se resuspendieron en un volumen igual de PBS + FBS al 2 % + EDTA 1 mM + yoduro de propidio (PI). El análisis por citometría de flujo se realizó en un dispositivo FACSCalibur en formato automatizado. Se contó el número de células diana vivas seleccionando células CFSE+/PI negativas. El porcentaje de citotoxicidad se calculó del siguiente modo: % de citotoxicidad (número de células diana vivas sin TDB - número de células diana vivas con TDB) / (número de células diana vivas sin TDB) x 100. Como se representa en las figuras 71A y 71B, Los TDB para FcRH5 con UCHT1v9 o 38E4v1 en su brazo anti-CD3 mostraron una robusta eliminación de células diana MOLP-2 *in vitro* en comparación con el TDB para FcRH5 que tiene 40G5c como brazo anti-CD3.
- 40
- 45

- 50 Cuando se evaluaron para ensayos de activación de linfocitos T, las figuras 72A-72D muestran que los TDB para FcRH5 con UCHT1v9 o 38E4v1 en su brazo anti-CD3 eran capaces de producir una robusta actividad de linfocitos T *in vitro*, en comparación con el TDB para FcRH5 que tenía 40G5c como brazo anti-CD3. En estos ensayos, se mezclaron las células diana y los linfocitos T CD8+ purificados en presencia o ausencia de TDB y se analizó la activación de linfocitos T mediante citometría de flujo. Al final de la incubación, se tiñeron las células con CD8-FITC (BD Bioscience, 555634) CD69-PE (BD Bioscience, 555531) y CD107a-Alexa-Fluor647 (eBioscience, 51-1079). Como alternativa, después de tefirse la superficie con CD8-FITC y CD69-PE, se fijaron las células y se permeabilizaron con solución Cytofix/CytoPerm (BD Bioscience, 554722) y se tiñeron intracelularmente con anti-granzima B-Alexa-Fluor647 (BD Bioscience, 560212). La activación de linfocitos T se evaluó mediante el porcentaje de células CD8+CD69+, CD8+CD107a+ y CD8+CD69+GranzimaB+.
- 55

60 Ejemplo 5. Generación y caracterización de TDB para CD3/HER2 a modo de ejemplo (TDB para HER2)

- Los presentes inventores también exploraron la capacidad de los anticuerpos TDB para reclutar las actividades citotóxicas de los linfocitos T a la hora de erradicar células tumorales mediante el reconocimiento de un antígeno de la superficie celular diferente, HER2. Con este fin, se generaron y caracterizaron anticuerpos anti-CD3 biespecíficos que tienen un brazo de anti-CD3 y un brazo de anti-HER2 (TDB para HER2). Como se ha descrito anteriormente, Los TDB para HER2 se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal en forma de una
- 65

IgG1 humana, como se ha descrito anteriormente (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Los medios anticuerpos se expresaron o bien en *E. coli* o en células de ovario de hámster chino (CHO), se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A y se hibridaron los pares de medios anticuerpos adecuados *in vitro* como se ha descrito anteriormente (Spiess et al., Nat. Biotechnol. 2013). En caso de llevarse a cabo la producción del anticuerpo TDB en células CHO, el anticuerpo incluyó una mutación de aglucosilación, por ejemplo, en el resto N297 (por ejemplo, N297G), de tal forma que el anticuerpo TDB era una variante sin función efectora y era incapaz de iniciar la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). Después de la hibridación, los TDB para HER2 se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y se caracterizaron mediante filtración en gel analítica, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida, como se ha descrito anteriormente. Un brazo anti-HER2 usado en la generación de los TDB para HER2 fue el del anticuerpo anti-HER2 hu4D5, que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 270 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 271. Se generaron TDB para HER2 adicionales para dirigirse a diferentes regiones del dominio extracelular (ECD) de HER2. Un anticuerpo anti-HER2, 2C4, se usó como brazo anti-HER2 que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 593 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 594. Otro anticuerpo anti-HER2 usado como brazo anti-HER2 fue el del anticuerpo anti-HER2, 7C2, que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 595 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 596. Otros brazos anti-HER2 usados en la generación de TDB para HER2 incluyeron variantes de afinidad de hu4D5, hu4D5.91A y hu4D5.Y100A (descritos en el documento US 7.435.797).

Se evaluó la unión de los TDB para HER2 específicos a linfocitos T CD8+ (unión a CD3) y a células SKBR3 (unión a Her2), así como su actividad, evaluada mediante ensayos de citotoxicidad y ensayos de activación de linfocitos T *in vitro*.

A. Afinidad de unión

Las afinidades de unión para cada uno de los TDB para HER2 se evaluó mediante análisis mediante FACS, como se ha descrito anteriormente para los TDB para CD20. En resumen, para los ensayos de unión de FACS, Se incubaron células Jurkat (para el antígeno CD3), células CD8+ humanas (para el antígeno CD3) o SKBR3 (para el antígeno Her2) con diversas concentraciones de anticuerpos TDB para HER2 a 4 °C durante 30 minutos, después, las células se lavaron y se incubaron con un 2.º anticuerpo (anti-hulG-PE, BD Bioscience; o anti-hulG-AlexaFluor647, Southern Biotech) durante otros 15 minutos, antes de lavarse nuevamente las células y estuviesen listas para el análisis FACS. La media geométrica de la fluorescencia se leyó mediante citometría de flujo. Las figuras 73, 76A, 78A-78C, 79A y 80A-80B muestran los resultados de los ensayos de unión de FACS *in vitro* de los TDB para HER2. Se evaluaron múltiples brazos para HER2 que se unen a diferentes regiones de HER2 en combinación con múltiples brazos para CD3 que se unen a diversas regiones de CD3ε para caracterizar las propiedades de unión de cada combinación. La figura 76A proporciona la estructura cristalina del ECD de HER2 y la de CD3ε y destaca las regiones en cada una a las que se unen los diferentes brazos para HER2 y CD3. El anticuerpo para HER2 hu4D5 se conoce como trastuzumab y se une a un epítipo en el dominio IV de HER2 que es la región de proteína más próxima a la membrana celular. El anticuerpo monoclonal humanizado 2C4 (rhuMAb 2C4) también se conoce como pertuzumab y se une a un epítipo en el dominio II de HER2 que se encuentra a 50 Angstrom del sitio de unión de hu4D5. Pertuzumab (PERJETA®, Genentech, Inc, South San Francisco) representa el primero de una nueva clase de agentes conocidos como inhibidores de la dimerización de HER (HDI) y funciona inhibiendo la capacidad de HER2 para formar heterodímeros u homodímeros activos con otros receptores de HER (tales como EGFR/HER1, HER2, HER3 y HER4) (Harari y Yarden. Oncogene 19:6102-6114, 2000; Yarden y Sliwkowski. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2:127-137, 2001; Sliwkowski. Nat. Struct. Biol. 10:158-159, 2003; Cho et al. Nature 421:756-60, 2003; y Malik et al. Pro. Am. Soc. Cancer Res. 44:176-177, 2003). El anticuerpo murino anti-HER2 7C2 se une a un epítipo en el dominio I de HER2 (Publicación PCT n.º WO 98/17797) que se encuentra a 100 Angstrom de distancia de la región de HER2 a la que se une hu4D5 (figura 76A).

Adicionalmente, se evaluó la afinidad de unión del TDB para HER2 con múltiples brazos de anti-CD3. Uno de los brazos anti-HER2 dados se combinó con brazos de direccionamiento a CD3 humano de alta afinidad, tales como SP34 y 38E4v1. Otras combinaciones de TDB para HER2 incluyeron los brazos de direccionamiento a CD3 humano de baja afinidad 40G5c o el brazo de direccionamiento a CD3 murino de 2C11. UCHT1v9 por su brazo anti-CD3 y hu4D5 por su brazo anti-HER2, citado en el presente documento como TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) o TDB para HER2, se comparó con el anticuerpo anti-HER2, trastuzumab y los fragmentos Fab de trastuzumab en un ensayo de Scatchard competitivo (Ramírez-Carrozzi et al. Nature Immunology. 12: 1159-1166, 2011). En este ensayo, se determinó la unión a SKBR-3 mediante unión competitiva a Fab ¹²⁵I-trastuzumab con trastuzumab, trastuzumab-Fab o TDB para HER2 inespecífico. La figura 74A muestra los resultados del ensayo de Scatchard competitivo *in vitro* del TDB para HER2.

B. Ensayos *in vitro* de eliminación de células diana SKBR3 y MCF7 y de activación de linfocitos T

Las combinaciones de TDB para HER2 de uno de los tres brazos anti-HER2 (hu4D5, 2C4 y 7C2) con el brazo anti-CD3 o bien de alta afinidad, 38E4v1 o de baja afinidad, 40G5c se ensayaron *in vitro* respecto de su capacidad para mediar la eliminación de células diana de células SKBR3 o MCF7 que expresan HER2 (figura 77). La actividad *in vitro*

de los TDB de hu4D5 con cualquiera de los brazos anti-CD3 demostró ser más eficaz que los TDB con 2C4 y 7C2 a la hora de mediar la eliminación máxima de células SKBR3 y MCF7, medida mediante su CE50 (figura 78). Esta actividad de eliminación también dependía del brazo para CD3 utilizado. La combinación del brazo anti-CD3 38E4v1 con uno cualquiera de los brazos anti-HER2 hu4D5, 2C4 o 7C2 fue más eficaz que la de las combinaciones de TDB para HER2 con 40G5c (figura 79). Las pruebas adicionales de las 6 combinaciones de TDB para HER2 revelaron que su actividad de eliminación de células diana no era dependiente del nivel de expresión de HER2 en células diana. La figura 80 muestra que los TDB para HER2 no eran selectivos para células diana SKBR3 con alta expresión de HER2 frente a células diana MCF7 con baja expresión de HER2. En cambio, la actividad del TDB para HER2 dependía de la afinidad del brazo anti-HER2 por HER2 (figura 81). Los TDB con baja afinidad para HER2 mantuvieron la actividad en células MCF7 con baja expresión de HER2 y no fueron capaces de eliminar de manera selectiva a células SKBR3 con amplificación de HER2 (figura 82).

También se evaluó la especificidad de los TDB para HER2 del brazo anti-HER2 por sus respectivos epítopos de HER2. La actividad de eliminación del HER2-TDB hu4D5-40G5c se limitó cuando se combinó con concentraciones crecientes de trastuzumab (hu4D5). Sin embargo, la eficacia de trastuzumab no se ve afectada por la combinación del TDB con hu4D5 con el anticuerpo hu4D5 (figura 83). Por el contrario, la eliminación de células diana mediada por 2C4-40G5c o 7C2 38E4v1 se bloqueó mediante la coadministración de los anticuerpos monoespecíficos bivalentes pertuzumab (2C4) o 7C2, respectivamente (figura 83). Cuando se evaluaron brazos anti-HER2 adicionales en múltiples ensayos de afinidad, todos los clones que demostraban actividad de TDB para HER2 alta o media compitieron con trastuzumab o pertuzumab (figura 84). Para la identificación de TDB candidatos para su ensayo *in vivo*, se ensayaron brazos para CD3 de alta (38E4v1, 38E4 y SP34) y baja afinidad (40G5c y 2C11) *in vitro* con linfocitos T CD3+ humanizados procedentes de ratón en combinación con los brazos anti-HER2 de hu4D5, 2C4 y 7C2 (figuras 85-86). A partir de este ensayo, se seleccionaron tres TDB candidatos basándose en su actividad de eliminación para su caracterización adicional *in vivo*: hu4D5-SP34, hu4D5-2C11 y 2C4-38E4. El tratamiento de animales portadores de tumores que expresan HER2 con el TDB para HER2 hu4D5-2C11 dio como resultado un aumento en las células CD45+ y CD8+ en el tumor tan pronto como 4 horas después del tratamiento. Tras un análisis adicional, los tumores tratados con HER2-TDB revelaron un aumento en los linfocitos T IFN γ + y PD1+ CD8+, así como una presencia aumentada de linfocitos T reguladores (Treg) (figura 87B). La detección del aumento de infiltrados inmunitarios en tumores también se correlacionó con una reducción en el volumen tumoral de los animales tratados con HER2-TDB, en comparación con el tratamiento de control de vehículo (figura 87A). En la figura 88A, el brazo anti-HER2 de hu4D5 combinado con el brazo anti-CD3 de baja afinidad, 2C11 o el brazo anti-CD3 de alta afinidad, SP34, dieron como resultado regresión tumoral en ratones transgénicos para HER2. Sin embargo, no se observó esta respuesta con el brazo anti-HER2 de 2C4, combinado con el brazo anti-CD3 de alta afinidad de 38E4 (figuras 88A-88B).

También se comparó el TDB para HER2 con trastuzumab bivalente y fragmentos Fab de trastuzumab respecto de su capacidad para inhibir directamente la proliferación de SKBR3. Las células diana SKBR3 que expresan HER2 se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 5×10^3 células/pocillo y se incubaron durante una noche para la adherencia celular antes del tratamiento con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo indicado. La proliferación/viabilidad celular se analizó después de 6 días de tratamiento mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CELLTITERGLO® (Promega, Madison, WI). Los resultados de este ensayo se muestran en la figura 74B. Adicionalmente, se llevó a cabo un ensayo de citotoxicidad *in vitro* con trastuzumab, trastuzumab producido en *E. coli* y TDB para HER2 para medir su capacidad para inducir citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) mediada por células NK (Jefferys Trends in Pharmacological Sciences. 30: 356-362, 2009; Simmons et al. Journal of Immunological Methods. 263: 133-147, 2002). Los anticuerpos producidos en *E. coli* no están glucosilados, lo que da como resultado una unión impedida a Fc γ R, que es necesaria para mediar la ADCC. El ensayo de citotoxicidad se llevó a cabo como en Junttila et al. (Cancer Research. 70: 4481-4489, 2010) con un kit de detección de citotoxicidad; LDH (Roche, Mannheim, Alemania). En resumen, se detectaron las células lisadas mediante liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) después de 4 horas de tratamiento con el anticuerpo especificado. Los resultados se muestran en la figura 74C.

También se evaluó la capacidad de los TDB para HER2 para soportar la eliminación de células diana SKBR3 que expresan HER2 y la activación del efecto citotóxico de los linfocitos T. La citotoxicidad *in vitro* se monitorizó mediante citometría de flujo. Las células diana se marcaron con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, n.º C34554). Las células diana marcadas con CFSE y los linfocitos T CD8+ purificados de PBMC humanas se mezclaron a una cierta relación E:T (como se indica en las leyendas de la figura), con o sin TDB durante 24 horas. Al final de la incubación, las células se desprendieron con tripsina y se recogieron de la placa. Las células se resuspendieron en un volumen igual de PBS + FBS al 2 % + EDTA 1 mM + yoduro de propidio (PI). El análisis por citometría de flujo se realizó en un dispositivo FACSCalibur en formato automatizado. Se contó el número de células diana vivas seleccionando células CFSE+/PI negativas. El porcentaje de citotoxicidad se calculó del siguiente modo: % de citotoxicidad (número de células diana vivas sin TDB - número de células diana vivas con TDB) / (número de células diana vivas sin TDB) x 100. Como se representa en la figura 75, el TDB para HER2 mostró una robusta eliminación de células diana SKBR3 *in vitro* en comparación con el TDB para HER2 que tenía la variante de afinidad de hu4D5 91A o Y100A como su brazo anti-HER2 (CE50 de hu4D5/ UCHT1v9 TDB = 0,1 ng/ml; hu4D5.91A/ UCHT1v9 TDB = 25,5 ng/ml; hu4D5.Y100A/ UCHT1v9 TDB = no se pudo determinar).

Adicionalmente, la afinidad de la variante hu4D5 anti-HER2 (0,4 nM) al dominio extracelular (ECD) de HER2 es mayor

que la de los brazos para HER2 2C4 (2,0 nM) y 7C2 (1,7 nM), que se muestra en la figura 76B. Además, la figura 76C muestra que el HER2-TDB hu4D5 es un mediador más potente de la eliminación de células diana MCF7 que el HER2-TDB 2C4 y el HER2-TDB 7C2. Además, se ensayó la cinética de la eliminación inducida por el TDB para HER2. Como se observa en la figura 94A, no se detectó una actividad de eliminación significativa a las 4-12 horas. Se detectó una eliminación robusta a las 24 horas y la actividad de eliminación aumentó con el paso del tiempo. Como se muestra en las figuras 90A - 90C y 92C, la comparación adicional de los brazos anti-CD3 del HER2-TDB hu4D5 demostró la eficacia de los distintos clones a la hora de mediar la eliminación de células SKBR3 que expresan HER2. En particular, dos TDB para HER2, hu4D5/38E4c y hu4D5/40G5c, fueron sorprendentemente tan eficaces o mejores a la hora de mediar la eliminación de células diana que el TDB para HER2 hu4D5/SP34 (figuras 90B y 90C).

Cuando se evaluaron para ensayos de activación de linfocitos T, la figura 89 muestra que el TDB para HER2 era capaz de inducir de manera robusta la actividad de linfocitos T *in vitro*, en comparación con el TDB para HER2 que tenía la variante de afinidad de hu4D5 91A o Y100A como su brazo anti-HER2. Tres brazos anti-CD3 (SP34, 38E4c y 40G5c) del HER2-TDB hu4D5 ensayados mostraron diferentes afinidades de unión por el antígeno CD3 en linfocitos T CD8+ humanos, como se observa en la figura 91A. No obstante, los tres HER2-TDB fueron capaces de mediar la activación de linfocitos T CD8+ (figura 91B). Los análisis adicionales de los brazos anti-CD3 38E4 y 38E4c del HER2-TDB de hu4D5 para mediar la activación de linfocitos T CD8+ se muestran en la figura 92D. Se ensayó adicionalmente la cinética de la activación de linfocitos T inducida por el TDB para HER2. Aparecen signos tempranos de activación de linfocitos T (CD69) 4h después del tratamiento con TDB para HER2. Sin embargo, los marcadores de activación tardía (CD107a extracelular) se detectaron más tarde, en el punto de tiempo de 24 horas (figura 94A). Adicionalmente, no se detectó activación de linfocitos T después de 48 horas cuando se incubaron las células CD8+ con TDB para HER2 o células diana que no expresan HER2 humano (células BJAB). Se observó una robusta activación de linfocitos T cuando se usaron células SKBR3 HER2+ como dianas, acompañada por la liberación de gránulos citotóxicos (figura 93A).

Los presentes inventores también evaluaron la capacidad del TDB para HER2 a la hora de inducir la eliminación de células diana BT474 y activar linfocitos T para las cinco relaciones a continuación de linfocitos T CD8+ efectores a células diana: 1:5, 1:2, 1:1, 3:1 y 5:1. Este experimento revela que la citotoxicidad medida por la liberación de LDH se reducía significativamente por la titulación de células efectoras; sin embargo, incluso con una relación E:T de $\leq 1:1$, se detectó una débil señal de LDH y una robusta activación de linfocitos T (figura 94B).

En estos ensayos, se mezclaron las células diana y los linfocitos T CD8+ purificados en presencia o ausencia de TDB y se analizó la activación de linfocitos T mediante citometría de flujo. Al final de la incubación, se tiñeron las células con CD8-FITC (BD Bioscience, 555634) CD69-PE (BD Bioscience, 555531) y CD107a-Alexa-Fluor647 (eBioscience, 51-1079). Opcionalmente, las células se tiñeron con CD8-FITC y CD69-PE, donde se evaluó la activación de linfocitos T por el porcentaje de CD8+CD69+ en células CD8+. Como alternativa, después de teñirse la superficie con CD8-FITC y CD69-PE, se fijaron las células y se permeabilizaron con solución Cytofix/CytoPerm (BD Bioscience, 554722) y se tiñeron intracelularmente con anti-granzima B-Alexa-Fluor647 (BD Bioscience, 560212). Se evaluó la activación de linfocitos T mediante el porcentaje de células CD8+CD107a+.

Otra medida para la citotoxicidad mediada por linfocitos T para el TDB para HER2 (UCHT1v9/hu4D5) medida es un ensayo de exocitosis de gránulos. La figura 93B muestra los resultados para perforina soluble (Cell Sciences), granzima A y granzima B (eBioscience) detectados del medio de crecimiento mediante ELISA de acuerdo con los protocolos del fabricante. En este ensayo, se usó un TDB de control (10 ng/ml), uno que comparte el mismo brazo para CD3 que el TDB para HER2 pero que tiene un brazo diana irrelevante o TDB para HER2 (10 ng/ml). Los anticuerpos se incubaron individualmente durante 18 horas con células diana SKBR3 y células mononucleares efectoras de sangre periférica (PBMC), que se separaron de la sangre de voluntarios sanos usando medio de separación de linfocitos (MP Biomedicals, Solon, OH). La citotoxicidad *in vitro* se midió mediante liberación de LDH como se ha descrito anteriormente. Se llevó a cabo una serie de ensayos de apoptosis con TDB para HER2 (1 ng/ml), PBMC efectoras y células diana SKBR3. Después de 24 horas de tratamiento, la exocitosis de gránulos coincidió con una significativa elevación inducida por TDB para HER2 de la actividad de caspasa 3/7 (ensayo CASPASE-GLO® 3/7, Promega), la apoptosis (ensayo ELISA^{plus} de detección de muerte celular, Roche) y la citotoxicidad, medida mediante liberación de lactato deshidrogenasa (LDH), que se ha descrito anteriormente (figura 93C).

Se midió la capacidad del TDB para HER2 a la hora de inducir la eliminación de células 3T3 transfectadas con HER2 o vector mediante el ensayo de citotoxicidad de LDH anteriormente mencionado, donde no se detectó eliminación de células 3T3 transfectadas con vector después de 19 horas; por el contrario, las células 3T3 transfectadas con HER2 se eliminaron con elevada eficiencia (figura 93D). Se modificó el ensayo de eliminación para bloquear la unión del brazo de HER2 usando Fab de trastuzumab (1 µg/ml) o dominio extracelular de HER2 soluble (ECD de HER2) (1 µg/ml) y esto dio como resultado la inhibición eficiente de la actividad de eliminación después de 24 horas (figura 93E). Para confirmar que la eliminación depende de linfocitos T, se redujeron las células CD3+ de las PBMC usando MicroPerlas para CD3+ de Miltenyi (n.º 130-050-101). La figura 93F muestra que la reducción dio como resultado pérdida de actividad de eliminación de células diana después de 19 horas, evaluada mediante análisis FACS en presencia de TDB para HER2.

El TDB para HER2 induce proliferación de linfocitos T

Para investigar si el TDB para HER2 induce proliferación de linfocitos T, se cocultivaron linfocitos T CD8+, células diana (SKBR3) y 0,1 µg/ml de TDB para HER2, seguido de cultivo de linfocitos T en ausencia de células diana y de TDB para HER2. Se midió la proliferación de linfocitos T en el día 3 mediante citometría de flujo como una dilución de CFSE en células CD8+/PI- con divisiones celulares. Después de 3 días, un 75 % de los linfocitos T pulsados con TDB para HER2 y células diana sufrieron una división celular, como se muestra en la figura 95A. Se evaluó el número de linfocitos T inducido por el TDB para HER2 marcando linfocitos T CD8+ purificados con CFSE de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, n.º C34554). Se incubaron linfocitos T CD8+ marcados con CFSE con células diana en presencia o ausencia de TDB durante 19 horas. Se recogieron linfocitos T, se lavaron y se cultivaron durante 2-7 días (RPMI + FBS al 10 %). Se detectó mediante FACS el número de células CD8+ vivas (CD8+/PI-) y el porcentaje de células CFSE dim. En la figura 95B, el número de células no aumentó. La suplementación adicional del medio de crecimiento con IL-2 (20 ng/ml) proporcionó una señal de supervivencia a las células CD8+ y se detectó una robusta proliferación de linfocitos T en los linfocitos T, pero solo si se les expone tanto al TDB para HER2 como a las células diana (figura 95C). De manera importante, no se detectó efecto de vecindad en células expresoras no diana en condiciones donde se eliminó a la mayoría de células HER2+ en el mismo cultivo. El TDB para HER2 indujo la proliferación y la expansión policlonal de los linfocitos T, lo que puede ser crítico para la amplificación de linfocitos infiltrantes en tumores.

La actividad de TDB para HER2 se correlaciona con el nivel de expresión de HER2 en células diana

Para investigar la relación entre el número de copias de la diana y la actividad del TDB, se seleccionó un panel de líneas celulares de cáncer con un número predeterminado de receptores HER2 en la membrana (Aguilar et al. Oncogene. 18:6050-62, 1999). Los niveles de expresión de proteína HER2 en una línea celular negativa para HER2 (BJAB LUC), 3 líneas celulares con baja expresión de HER2 (MDA435, MDA231, MCF7) y 3 líneas celulares que sobreexpresan/con amplificación de HER2 (MD453, SKBR3, BT474) se detectaron mediante transferencia de Western (figura 96A). Se incubaron líneas celulares negativas para HER2, con baja expresión de HER2 y que sobreexpresan HER2 con TDB para HER2 y con PBMC efectoras a una relación de E:T de 25:1 durante 26 horas. En este punto de tiempo, se detectó la citotoxicidad usando el ensayo de liberación de LDH. La figura 96B muestra que las células con amplificación/sobreexpresión de HER2 eran significativamente más sensibles a la eliminación mediada por TDB ($p=0,015$, prueba de la t) y se lisaron eficazmente a concentraciones de femtomolar a bajo picomolar ($CE_{50}=0,8-3$ pM). Las líneas celulares que expresaban bajos niveles de HER2 fueron significativamente menos sensibles al anticuerpo TDB para HER2 ($CE_{50}=33-51$ pM). Fueron suficientes tan pocas como <1000 copias de antígeno diana para soportar la eliminación de linfocitos T.

Para los estudios efectuados en las figuras 96C-96D, se usó como diana conjunta la línea celular MCF7 o la línea celular BJAB con células SKBR3 en presencia de TDB para HER2 en el mismo ensayo de eliminación. En este ensayo, se marcaron células MCF7 o BJAB con CFSE y se mezclaron con SKBR3 y PBMC (E:T de 20:1), seguido de 19 horas de tratamiento con TDB para HER2. Las células se tiñeron con APC anti-HER2 y PI. La figura 96C muestra el porcentaje de células SKBR3 vivas (HER2 alto, PI-) y MCF7 (CFSE+, PI-) detectadas mediante FACS y normalizadas a las perlas fluorescentes. No se pudo detectar eliminación de células MCF7 a la CE_{50} para la eliminación de SKBR3. Se muestra el porcentaje de células SKBR3 (HER2 alto, PI-) y BJAB (CFSE+ PI-) vivas detectado mediante FACS y normalizado a las perlas fluorescentes. No se pudo detectar eliminación significativa de células BJAB a ninguna concentración de TDB para HER2 (figura 96D).

Una muy baja ocupación de la diana es suficiente para la actividad del TDB

A continuación, se calculó la ocupación de HER2 a la CE_{50} para el TDB para HER2 usando la fórmula $[D]/([D]+K_D)$ (donde D = fármaco y la K_D para el TDB para HER2 fue de 5,4 nM). El número de copias de HER2 se ha comunicado con anterioridad (Aguilar et al. Oncogene. 18: 6050-6062, 1999). Los valores de CE_{50} se calcularon a partir de datos de respuesta a la dosis en la figura 97B. La figura 96E muestra que en todas las líneas celulares ensayadas, fue suficientemente una ocupación de la diana menor de un 1 % para una eliminación eficiente. En el caso de las líneas celulares que expresan HER2, la ocupación necesaria fue incluso menor (0,01-0,05 %). El número absoluto calculado de TDB para HER2 unido a HER2 a la CE_{50} fue tan bajo como de 10-150 en las líneas celulares con baja expresión. Estos resultados destacan la extrema potencia del TDB para HER2 y son consistentes con estudios de activación de TCR, que sugieren que se necesita el acoplamiento a tan pocos como 1-25 TCR para activar respuestas de linfocitos T (Irvine et al. Nature. 419: 845-849, 2002; Purbhoo et al. Nature Immunology. 5: 524-530, 2004; Sykulev et al. Immunity. 4: 565-571, 1996). La potencia del TDB para HER2 se encontró consistentemente en el intervalo de bajo picomolar a femtomolar. Además, fueron suficientes tan pocos como 10-500 TDB unidos a HER2 para inducir una citotoxicidad *in vitro* significativa. Fueron suficientes tan pocas como ~1000 copias de HER2 en la membrana plasmática para inducir la eliminación. Estos estudios también demostraron una correlación entre los niveles de expresión de la diana y la sensibilidad *in vitro* al TDB para HER2.

El TDB para HER2 es eficiente a la hora de eliminar células de cáncer HER2+ resistentes a las terapias con anti-HER2

A continuación, se examinaron líneas celulares que se había demostrado con anterioridad que expresan altos niveles

de HER2 pero que son insensibles a los efectos celulares directos de trastuzumab y lapatinib *in vitro* (Junttila et al., Cancer Cell, 15:429-40, 2009; Junttila et al. Breast Cancer Res Treat, 2010). Para algunas líneas celulares, la activación de la vía de PI3K causada por mutaciones activantes adquiridas en la subunidad catalítica de PI3K (KPL4, HCC202) o por la pérdida de PTEN (HCC1596) puede provocar resistencia. Un panel de seis líneas celulares (5 de mama, 1 de pulmón) se ensayó respecto de su liberación de LDH como una medida de la citotoxicidad en presencia de PBMC efectoras, a una relación de 10:1 y TDB para HER2 durante 19 horas. La CE50 para la eliminación mediada por TDB para HER2 se encontraba en el intervalo femtomolar o de picomolar bajo (figura 97A). Se trataron clones de BT474-M1 precursoras y resistentes a T-DM1 con T-DM1 durante 3 días. En este punto de tiempo, se midió la viabilidad celular usando CELLTITERGLO® (figura 97B). Se ha comunicado con anterioridad la sensibilidad de las líneas celulares a T-DM1 (Junttila et al. Breast Cancer Res Treat. 2010; Lewis Phillips et al. Cancer Research. 68: 9280-9290, 2008). En comparación, los clones BT474-M1 precursores y resistentes a T-DM1 se trataron con TDB para HER2 en presencia de linfocitos T CD8+ efectoras a una relación de 3:1 durante 24 horas. La citotoxicidad se detectó usando ensayo FACS (figura 97C). Además, el TDB para HER2 fue eficaz para eliminar células de cáncer de pulmón HER2+. Usando dos modelos de línea celular independientes KPL4 y BT474, (figura 97B-97C), la resistencia adquirida a T-DM1 no afectó la sensibilidad al TDB para HER2.

El reclutamiento de actividad de eliminación de linfocitos T con TDB para HER2 es dependiente de la expresión de HER2, pero independiente de la vía de señalización de HER2, lo que sugiere que el TDB para HER2 puede ser eficiente en el tratamiento de tumores que son refractarios a las terapias anti-HER2 actuales. De manera acorde, los datos demostraron una actividad igual en el tratamiento de líneas celulares multirresistentes a trastuzumab/lapatinib en comparación con las células sensibles. La resistencia en estas células se genera mediante diversos mecanismos que afectan a la vía de HER2. Los datos presentados en este caso sugieren que el intercambio a un mecanismo de acción alternativo usando el TDB para HER2 puede permitir ampliamente superar la resistencia a los conjugados de anticuerpo-fármaco (por ejemplo, T-DM1), inhibidores de molécula pequeña dirigidos (por ejemplo, lapatinib) y a anticuerpos monoclonales terapéuticos que bloquean la vía de señalización (por ejemplo, trastuzumab).

Farmacocinética del TDB para HER2 en ratas

Para evaluar el perfil farmacocinético (PK) del TDB para HER2, se utilizaron ratas Sprague-Dawley. Los animales fueron separados en los dos grupos a continuación: Grupo 1: TDB para HER2 (10 mg/kg, IV individual, n = 4); Grupo 2: trastuzumab (10 mg/kg, IV individual, n = 4). Se tomaron muestras de 4 ratas por grupo en puntos de tiempo a lo largo de 35 días después de la dosis. Se recogieron aproximadamente 0,2 ml de sangre completa a través de la vena yugular (bajo anestesia con CO₂/O₂). Se dejaron coagular las muestras y se centrifugaron con refrigeración (5 °C durante 10 minutos a 2000 x g) para obtener el suero. Las muestras de suero se ensayaron respecto de IgG mediante ELISA, donde se usó anti-huFc de burro recubierto en una placa de microtitulación para capturar los anticuerpos anti-HER2 humanizados en circulación y anticuerpo de cabra anti-huFc-HRP (adsorbido a ratón) para su detección. Los parámetros PK se determinaron con un método de 2 compartimentos (Modelo 7) usando WINNONLIN®, versión 5.2.1 (Pharsight Corp., Mountain View, CA). El TDB para HER2 no reacciona de manera cruzada con CD3 de rata o HER2 de rata y mostró una disposición bifásica típica de una IgG1 con una corta fase de distribución y una lenta fase de eliminación (figura 98). Tanto la eliminación como la semivida del TDB para HER2 fueron similares a trastuzumab y dentro del intervalo esperado de una IgG1 típica en ratas.

El TDB para HER2 inhibe el crecimiento tumoral *in vivo* en ratones inmunocomprometidos

La eficacia *in vivo* del TDB para HER2 se ensayó en ratones NOD-SCID, que carecen de linfocitos T y B funcionales endógenos y tienen niveles reducidos de los tipos celulares NK, DC y de macrófagos. En este experimento, se implantó en ratones NOD/SCID (NOD.CB17-Prkdcscid/J, Jackson Labs West) 0,36 mg de gránulos de estrógeno de liberación sostenida durante 60 días (Innovative Research of America) 1 a 3 días antes de la inoculación de células, por vía subcutánea en el flanco opuesto al de inoculación del tumor. En el día 0, se inyectaron 5×10⁶ células MCF7-neo/HER2 o bien solas o junto con 10×10⁶ PBMC humanas no estimuladas de uno de dos donantes sanos (PBMC 1, 2) en HBSS-matrigel en los panículos adiposos mamarios 2/3 derechos. Los ratones inoculados se dividieron en los cinco grupos a continuación: Grupo 1: vehículo (TDB de control, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=5-10); Grupo 2: PBMC(1) (PBMC (1) + TDB de control, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=5-10); Grupo 3: PBMC (1) + TDB para HER2 (PBMC (1) + TDB para HER2, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=5-10); Grupo 4: PBMC(2) (PBMC (2) + TDB de control, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=5-10); y Grupo 5: PBMC (2) + TDB para HER2 (PBMC (2) + TDB para HER2, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=5-10). Los primeros tratamientos se administraron 2 horas después de la inoculación. Los volúmenes tumorales de ratones individuales y los volúmenes tumorales ajustados de los grupos de tratamiento se presentan en la figura 99A, donde el TDB para HER2 previno el crecimiento de tumores que expresan HER2.

Se evaluó adicionalmente la dependencia de las PBMC humanas en el TDB para HER2 en un modelo de ratón inmunocomprometido similar. De nuevo, se inyectaron 5×10⁶ células MCF7-neo/HER2 o bien solas o junto con 10×10⁶ PBMC humanas no estimuladas de uno de un donante sano (PBMC 3) en HBSS-matrigel en los panículos adiposos mamarios 2/3 derechos y se administraron los primeros tratamientos 2 horas después de la inoculación. En la figura 100A, los ratones inoculados se dividieron en los dos grupos a continuación: Grupo 1: sin tratar (n=7); Grupo 2: TDB para HER2 (TDB para HER2, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=7). En la figura 100B, los ratones

inoculados se dividieron en los tres grupos a continuación: Grupo 1: sin tratar (n=7); Grupo 2: PBMC(3) (PBMC (3) + vehículo, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=7); Grupo 3: PBMC(3) + TDB de control (PBMC(3) + TDB-2C11 de control, 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=7). Las medidas de volumen tumoral resultantes no revelan efecto en el crecimiento tumoral en los animales tratados con TDB de control.

El TDB para HER2 provoca regresión de los tumores mamarios grandes en ratones transgénicos para huHER2

Para modelar la actividad del TDB para HER2 en ratones inmunocompetentes, se usaron ratones transgénicos para MMTV-huHER2 humano (Finkle et al. Clinical Cancer Research. 10: 2499-2511; 2004) y un supuesto TDB para HER2 que comprende un clon de anticuerpo reactivo con CD3 de IgG2A murino, clon 2C11 (Leo et al. Proc Natl Acad Sci USA. 84: 1374-1378, 1987) se generó para evitar la respuesta inmunitaria contra el TDB. Para la expresión como mulgG2a, se introdujeron mutaciones de botón en ojal equivalentes (Atwell et al. J Mol Biol. 270: 26-35, 1997) en la región Fc, así como D265A y N297G (numeración de EU) para suprimir la función efectora. En los TDB para HER2 de mulgG2a, el brazo de "botón" es el hu4D5 murino anti-HER2 y el "ojal" es o bien 2C11 quimérico anti-CD3 murino (Leo et al. Proc Natl Acad Sci USA. 84: 1374-1378, 1987) (TDB 2C11/hu4D5) o SP34 de ratón anti-huCD3 (Pessano et al. The EMBO Journal. 4: 337-344, 1985) (TDB SP34/hu4D5). Los anticuerpos biespecíficos mulgG2a se expresaron en células CHO y se ensamblaron mediante ensamblaje *in vitro*. Se purificaron los anticuerpos biespecíficos de los contaminantes mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) como se ha descrito en otras partes (Speiss et al. Nat Biotechnology. 31: 753-758, 2013). El material resultante se analizó respecto de los niveles de endotoxina usando un sistema de ensayo portátil ENDOSAFE® (Charles River, EE. UU.) y cuando fuese necesario, se redujo el contenido de endotoxina lavando la proteína con TRITON™ X-114 al 0,1 %. La actividad *in vitro* de hu4D5/2C11-TDB fue similar a la del TDB para HER2 reactivo con CD3 humano (figura 101).

En las figuras 99B-99D, se dividieron los animales transgénicos para MMTV-huHER2 con tumores mamarios establecidos en los dos grupos a continuación: Grupo 1: vehículo (0,5 mg/kg, qwk x 5, IV, comenzando en el día 0, n=7); y Grupo 2: TDB para HER2 (TDB para HER2 (2C11/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwk x 5, IV, comenzando en el día 0, n=7). La figura 99B muestra que se detectó regresión en un 57 % de los ratones y un 43 % de los ratones no tuvieron tumor detectable después del tratamiento. La figura 99C muestra que el TDB para HER2 (2C11/hu4D5) dio como resultado una regresión tumoral mayor del 50 %, con la excepción de un tumor. Los tumores sensibles incluyeron tumores que tenían >1000 mm³ al comienzo del tratamiento, como se observa en la figura 99D. En un experimento similar, se usaron dos TDB de control, donde uno es un TDB de control de brazo para CD3, uno con el brazo específico para CD3 cambiado al brazo para CD3 específico de humano (TDB para HER2 (SP34/hu4D5)) y uno es un TDB de control, uno que comparte el mismo brazo para CD3 que el TDB para HER2 (2C11/hu4D5), pero tiene un brazo para una diana irrelevante (CTRL TDB-2C11). En la figura 99E, se dividieron los animales transgénicos para MMTV-huHER2 con tumores mamarios establecidos en los dos grupos a continuación: Grupo 1: TDB de control de brazo para CD3 (TDB para HER2 (SP34/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwk x 5, IV, comenzando en el día 0, n=5); y Grupo 2: TDB de control (TDB-2C11 de control, 0,5 mg/kg, qwk x 5, IV, comenzando en el día 0, n=5). El crecimiento de los tumores transgénicos MMTV-huHER2 no se vio afectado por los TDB de control.

Se evaluó adicionalmente la eficacia *in vivo* del TDB para HER2 en ratones transgénicos para huCD3. Los ratones transgénicos para CD3ε humano se han descrito anteriormente ((transgénicos para huCD3), de la Hera et al. J Exp Med. 173: 7-17, 1991). En este estudio, se inyectaron 0,1 millones de células CT26-HER2 por vía subcutánea en ratones transgénicos para huCD3. Una vez se establecieron los tumores CT26-HER2, los animales se dividieron en los dos grupos a continuación: Grupo 1: vehículo (0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=7); Grupo 2: TDB para HER2 (TDB para HER2 (SP34/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=7). El TDB para HER2 inhibió el crecimiento de tumores establecidos, pero el efecto fue transitorio y no se observaron respuestas completas (figura 99F). El estudio demostró la potente actividad *in vivo* del TDB para HER2, incluyendo respuestas dramáticas en ratones transgénicos para MMTV-huHER2.

En un experimento similar, se evaluó la eficacia *in vivo* del TDB para HER2 reactivo con ratón (2C11/hu4D5) en ratones Balb/c. De nuevo, se establecieron tumores singénicos en ratones Balb/c inyectando 1x10⁵ células CT26-HER2 por vía subcutánea. Los ratones portadores de tumores se dividieron en uno de los cuatro grupos a continuación: Grupo 1: vehículo (0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=10); Grupo 2: TDB para HER2 (TDB para HER2 (2C11/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=10); Grupo 3: TDB de control (CTRL TDB (2C11/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=10); y Grupo 4: TDM-1 (TDM-1, 15 mg/kg, qwk x 3, IV, comenzando en el día 0, n=10). La figura 99G muestra que a pesar de las respuestas incompletas, el TDB para HER2 prolongó significativamente el tiempo hasta la progresión tumoral (valor de p de rangos logarítmicos < 0,0001). Por el contrario, el TDB de control con un brazo irrelevante para el tumor no tuvo efecto en el crecimiento tumoral. Además, los tumores fueron insensibles a TDM-1.

El TDB para HER2 inhibe el crecimiento de tumores establecidos en ratones inmunocompetentes

Se usaron ratones transgénicos para CD3ε humano (de la Hera et al. J Exp Med. 173: 7-17, 1991) para modelar la actividad del TDB para HER2 en ratones inmunocompetentes. En este experimento, se extrajeron linfocitos T transgénicos para huCD3 de bazos de ratones transgénicos para huCD3 y ratones BALB/c o de la sangre periférica de donantes humanos sanos. Las células se tiñeron con CD8 de ratón o humano y o bien CD3 humano (clon UCHT1)

en la figura 101A o CD3 de ratón (clon 2C11) en la figura 101B. Las células CD8⁺ se detectaron mediante citometría de flujo. La figura 101A muestra que los linfocitos T transgénicos para huCD3 expresan CD3 humano a aproximadamente un 50 % del nivel de los linfocitos T humanos y la figura 101B muestra que los linfocitos T transgénicos para huCD3 expresan CD3 murino a aproximadamente un 50 % del nivel de los ratones BALB/c.

A continuación, se ensayó la capacidad de los linfocitos T transgénicos para huCD3 para eliminar células diana CT26 que expresan HER2 humano *in vitro*. En este estudio, se extrajeron linfocitos T de bazo de ratones transgénicos para huCD3, ratones BALB/c o de sangre periférica de donantes sanos. Se evaluó la actividad de eliminación *in vitro* de células CT26-HER2 usando TDB para HER2 específico para CD3 (UCHT1v9/hu4D5) en la figura 102A o TDB para HER2 específico para CD3 de ratón (2C11/hu4D5) en la figura 102B. Se añadieron linfocitos T efectoras a una relación de 20:1 con respecto a las células diana en presencia del TDB para HER2 indicado durante 40 horas. La citotoxicidad *in vitro* se monitorizó mediante citometría de flujo. Aunque la actividad de eliminación de linfocitos T esplénicos de ratón (CE50 = 2,4 ng/ml) fue consistentemente menor en comparación con linfocitos T periféricos (CE50 = 0,4 ng/ml), los linfocitos T transgénicos para huCD3 eliminaron células diana que expresan HER2 *in vitro*, como se observa en la figura 102A. El TDB para HER2 específico de ratón (2C11/hu4D5) indujo eliminación de células diana por linfocitos T tanto de ratones transgénicos para huCD3 (CE50 = 11 ng/ml) y BALB/c (CE50 = 10 ng/ml), como se observa en la figura 102B.

Se evaluó adicionalmente en un modelo de tumor singénico si la actividad antitumoral del TDB para HER2 depende de linfocitos T. Como se ha descrito anteriormente, se inyectaron 1×10^5 células CT26-HER2 por vía subcutánea en ratones BALB/c. Los ratones con tumores establecidos se dividieron en uno de los dos grupos a continuación: Grupo 1: vehículo (n=10); Grupo 2: TDB para HER2 (SP34/hu4D5) (TDB para HER2 (SP34/hu4D5), 0,5 mg/kg, qwx3, IV, n=10). La figura 103 muestra que la actividad del TDB para HER2 era dependiente de linfocitos T, ya que el TDB para HER2 no tuvo efecto en ratones no transgénicos para huCD3. Este estudio demostró que los ratones transgénicos para huCD3 pueden usarse como un nuevo modelo de eficacia para moléculas dirigidas a huCD3.

Ejemplo 6. Generación y caracterización de TDB para CD3/LYPD1 a modo de ejemplo (TDB para LYPD1)

Los presentes inventores también exploraron la capacidad de los anticuerpos TDB para reclutar las actividades citotóxicas de los linfocitos T a la hora de erradicar células tumorales mediante el reconocimiento de un antígeno de la superficie celular diferente, LYPD1. Con este fin, se generaron y caracterizaron anticuerpos anti-CD3 biespecíficos que tienen un brazo de anti-CD3 y un brazo de anti-LYPD1 (TDB para LYPD1). Como se ha descrito anteriormente, Los TDB para LYPD1 se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato de botón en ojal en forma de una IgG1 humana, como se ha descrito anteriormente (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Los medios anticuerpos se expresaron o bien en *E. coli* o en células de ovario de hámster chino (CHO), se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A y se hibridaron los pares de medios anticuerpos adecuados *in vitro* como se ha descrito anteriormente (Spiess et al., Nat. Biotechnol. 2013). En caso de llevarse a cabo la producción del anticuerpo TDB en células CHO, el anticuerpo incluyó una mutación de aglucosilación, por ejemplo, en el resto N297 (por ejemplo, N297G), de tal forma que el anticuerpo TDB era una variante sin función efectora y era incapaz de iniciar la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). Después de la hibridación, los TDB para LYPD1 se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y se caracterizaron mediante filtración en gel analítica, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida, como se ha descrito anteriormente. El brazo anti-LYPD1 usado en la generación de los TDB para LYPD1 fue el del anticuerpo anti-LYPD1 YWO.49.H6, que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 272 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273. Los brazos anti-CD3 evaluados en la generación de TDB para LYPD1 incluyeron UCHT1v9, 40G5, SP34 y 38E4v1.

Se evaluó la unión de los TDB para HER2 específicos a linfocitos T CD8⁺ (unión a CD3), así como su actividad, evaluada mediante ensayos de citotoxicidad y ensayos de activación de linfocitos T *in vitro*.

A. Afinidad de unión

Las afinidades de unión para cada uno de los TDB para LYPD1 se evaluó mediante análisis FACS, como se ha descrito anteriormente para los TDB para CD20. En resumen, para los ensayos de unión de FACS, se incubaron linfocitos T CD8⁺ con diversas concentraciones de anticuerpos TDB para LYPD1 a 4 °C durante 30 minutos, después, las células se lavaron y se incubaron con un 2.º anticuerpo (anti-hulgG-PE; BD Bioscience) durante otros 15 minutos, antes de lavarse nuevamente las células y estuviesen listas para el análisis FACS. La figura 104 muestra los resultados de los ensayos de unión de FACS *in vitro* de los TDB para LYPD1. Los estudios de unión demostraron que los TDB para LYPD1 que tenían UCHT1v9 o 38E4v1 como su brazo anti-CD3 demostraron una mayor afinidad de unión por las células efectoras resultantes.

B. Ensayos *in vitro* de eliminación de células diana OVCAR3.Luc y de activación de linfocitos T

También se evaluó la capacidad de los TDB para LYPD1 para soportar la eliminación de células diana OVCAR3.Luc que expresan LYPD1 y la activación del efecto citotóxico de los linfocitos T. La citotoxicidad *in vitro* se monitorizó mediante citometría de flujo. Las células diana se marcaron con CFSE de acuerdo con el protocolo del fabricante

(Invitrogen, n.º C34554). Las células diana marcadas con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) y los linfocitos T CD8+ purificados procedentes de PBMC humanas se mezclaron a una relación 3:1, con o sin TDB durante 48 horas. Las células se resuspendieron en un volumen igual de PBS + FBS al 2 % + EDTA 1 mM + yoduro de propidio (PI). El análisis por citometría de flujo se realizó en un dispositivo FACSCalibur en formato automatizado. Se contó el número de células diana vivas seleccionando células CFSE+/PI negativas. El porcentaje de citotoxicidad se calculó del siguiente modo: % de citotoxicidad (número de células diana vivas sin TDB - número de células diana vivas con TDB) / (número de células diana vivas sin TDB) x 100. Como se representa en la figura 105, Los TDB para LYPD1 con UCHT1v9, 38E4v1 o SP34 en su brazo anti-CD3 mostraron una robusta eliminación de células diana OVCAR3.Luc *in vitro* en comparación con el TDB para LYPD1 que tiene 40G5 como brazo anti-CD3.

Cuando se evaluaron para ensayos de activación de linfocitos T, La figura 106 muestra que los TDB para LYPD1 con 38E4v1 y, en menor medida, UCHT1 v9 y SP34, por su brazo anti-CD3 fueron capaces de inducir de manera robusta la actividad de linfocitos T *in vitro*, en comparación con el TDB para LYPD1 que tenía 40G5c como brazo anti-CD3. En estos ensayos, se mezclaron las células diana y los linfocitos T CD8+ purificados en presencia o ausencia de TDB y se analizó la activación de linfocitos T mediante citometría de flujo. Al final de la incubación, se tiñeron las células con CD8-FITC (BD Bioscience, 555634) CD69-PE (BD Bioscience, 555531) y CD107a-Alexa-Fluor647 (eBioscience, 51-1079). Como alternativa, después de teñirse la superficie con CD8-FITC y CD69-PE, se fijaron las células y se permeabilizaron con solución Cytofix/CytoPerm (BD Bioscience, 554722) y se tiñeron intracelularmente con anti-granzima B-Alexa-Fluor647 (BD Bioscience, 560212). La activación de linfocitos T se evaluó mediante el porcentaje de células CD8+CD69+ y CD8+CD25+.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.

<120> ANTICUERPOS ANTI-CD3 Y MÉTODOS DE USO

<130> 50474-052WO6

<150> 62/091.441

<151> 12-12-2014

<150> 62/053.582

<151> 22-09-2014

<150> 62/026.594

<151> 18-07-2014

<150> 61/949.950

<151> 07-03-2014

<150> 61/917.346

<151> 17-12-2013

<160> 650

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 1

Asn Tyr Tyr Ile His

1

5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

ES 2 811 923 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 5
 <400> 2
 Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 10
 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 3
 Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 20
 <210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 25
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 30
 <400> 4
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Ala
 35
 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40
 <223> Construcción sintética
 <400> 5
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5
 45
 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>

ES 2 811 923 T3

<223> Construcción sintética

<400> 6

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 7

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 8

20 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética

<400> 8

Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

30

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 9

40

Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 10

<211> 17

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

50 <223> Construcción sintética

<400> 10

ES 2 811 923 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 11

Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser
1 5

<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 12

Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 13

Asp Ala Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 14

Lys Gln Ser Phe Ala Leu Arg Thr
1 5

<210> 15

ES 2 811 923 T3

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 15

 Lys Ala Ser Phe Ile Leu Arg Thr
 1 5
 10
 <210> 16
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20 <400> 16

 Lys Gln Ser Ala Ile Leu Arg Thr
 1 5
 25
 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 17

 Thr Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 35
 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 18
 45
 Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5 10
 50
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 55 <400> 19

ES 2 811 923 T3

		Ser Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
		1 5 10
5	<210> 20	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 20	
		Asp Gly Tyr Ser Arg Ala Tyr Phe Asp Tyr
		1 5 10
15	<210> 21	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 21	
25		Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
		1 5 10
	<210> 22	
	<211> 8	
30	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
35	<400> 22	
		Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
		1 5
40	<210> 23	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 23	
		Gly Tyr Thr Met Asn
		1 5
50	<210> 24	
	<211> 17	
	<212> PRT	
55	<213> Secuencia artificial	

ES 2 811 923 T3

<220>
 <223> Construcción sintética

5 <400> 24

Leu	Ile	Asn	Pro	Tyr	Lys	Gly	Val	Ser	Thr	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Asp

10 <210> 25
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 25

Ser	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10			

25 <210> 26
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Construcción sintética

30 <400> 26

Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Arg	Asn	Tyr	Leu	Asn
1				5					10	

35 <210> 27
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Construcción sintética

40 <400> 27

Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	Glu	Ser
1				5		

45 <210> 28
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción sintética

55 <400> 28

ES 2 811 923 T3

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

5 <210> 29
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 29

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

15 <210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 30

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25
30 <210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 31

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

40 <210> 32
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 32

ES 2 811 923 T3

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 33

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 34
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 34

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 35

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 36

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 37

ES 2 811 923 T3

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 37
 Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5
 10 <210> 38
 <211> 17
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20 <400> 38
 Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 25 <210> 39
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 39
 Arg Gly Asp Tyr Arg Tyr Ala Trp Phe Leu Tyr
 1 5 10
 35 <210> 40
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 40
 45 Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
 1 5 10
 50 <210> 41
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 41

Gly Thr Ser Asn Arg Ala Pro
1 5

5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 42

15

Ala Leu Trp Tyr Ser Thr His Phe Val
1 5

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Construcción sintética

25

<400> 43

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

30

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 44

Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

40

Gly

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Construcción sintética

50

<400> 45

Asn His Asp Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

ES 2 811 923 T3

<210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <400> 46

 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

 Ala

 15 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 47

 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

 25 <210> 48
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 48

 35 <210> 49
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Construcción sintética

 45 <400> 49

 Asn Tyr Ala Ile His
 1 5

 50 <210> 50
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 50
 5 Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
 1 5 10 15
 <210> 51
 <211> 11
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 15 <400> 51
 Glu Asp Ser Ser Gly Tyr Val Ala Leu Asp Tyr
 1 5 10
 20 <210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 52
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Ala
 30 <210> 53
 <211> 7
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 40 <400> 53
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5
 45 <210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Construcción sintética
 <400> 54

ES 2 811 923 T3

Lys Gln Ser Tyr Tyr Leu Leu Thr
1 5

5 <210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 55

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile His
1 5 10

15 <210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 56

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Met
1 5 10 15

25 Ser

<210> 57
<211> 28
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 57

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
1 5 10 15

Arg Glu Asp Ser Ser Gly Tyr Val Ala Leu Asp Tyr
20 25

<210> 58

<211> 17
<212> PRT
40 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
45 <400> 58

ES 2 811 923 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

5 <210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 59

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

15 <210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 60

Lys Gln Ser Tyr Tyr Leu Leu Thr
1 5

25

30 <210> 61
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 61

Gly Ser Ala Met His
1 5

40 <210> 62
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 62

ES 2 811 923 T3

Arg Ile Arg Ser Arg Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

5 <210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 63

Asp Thr Met Val Arg Gly Ile Asp Tyr
1 5

15 <210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 64

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Val

25

30 <210> 65
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 65

Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

40 <210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 66

ES 2 811 923 T3

Gln Gln Tyr Tyr Ser Val Pro Trp Thr
1 5

5 <210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
10
<400> 67

Ser Asp Tyr Ile His
1 5

15 <210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 68

Trp Ile Tyr Phe Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

25

30 <210> 69
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 69

Asp Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

40 <210> 70
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 70

ES 2 811 923 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

5 <210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 71

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

15 <210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 72

Lys Gln Ser Phe Thr Leu Arg Thr
1 5

25 <210> 73
<211> 5
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 73

Ser His Tyr Leu His
1 5

40 <210> 74
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 74

ES 2 811 923 T3

Trp Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asn Val Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

5 <210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 75

Asp Gly Ala Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

15 <210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 76

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

25

30 <210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 77

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

40 <210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 78

Lys Gln Ser Tyr Thr Leu Arg Thr
1 5

ES 2 811 923 T3

<210> 79
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 79

Ser Tyr Tyr Ile His
 1 5

 15 <210> 80
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 80

Trp Ile Phe Pro Gly Ser Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

 25 <210> 81
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 81
 35

Asn Gly Asn Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5

 40 <210> 82
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 45 <400> 82

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

 50

5 <210> 83
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <400> 83

 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

 15 <210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 84

 Lys Gln Ser Tyr Thr Leu Arg Thr
 1 5

 25 <210> 85
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 85

 35 Ser Tyr Tyr Ile His
 1 5

 40 <210> 86
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 45 <400> 86

 Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 50 Gly

 <210> 87
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 87
 5

 Asn His Asp Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

 <210> 88
 <211> 17
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 15

 <400> 88

 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

 Ala

 20 <210> 89
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 89

 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5
 30

 <210> 90
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 40 <400> 90

 Lys Gln Ser Tyr Ile Leu Arg Thr
 1 5

 45 <210> 91
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 91

ES 2 811 923 T3

Asn Tyr Gly Met Asn
1 5

5 <210> 92
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 92

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

15 <210> 93
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 93

Arg Gly Asp Tyr Arg Tyr Ala Trp Phe Thr Tyr
1 5 10

25 <210> 94
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 94

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

40 <210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 95

Gly Thr Ser Asn Arg Ala Pro
1 5

50

ES 2 811 923 T3

5 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <400> 96

 Ala Leu Trp Tyr Ser Thr His Phe Val
 1 5

 15 <210> 97
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 20
 <400> 97

 Asn Tyr Tyr Ile His
 1 5

 25 <210> 98
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 98

 Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Thr Lys Phe Asn Asp Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 Gly
 35

 <210> 99
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 45 <400> 99

 Asp Ser Ile Thr Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

 50 <210> 100
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

5 <400> 100

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ile Arg Thr Arg Lys Asn Cys Leu
1 5 10 15

Ala

10 <210> 101
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 101

Trp Ala Ser Thr Arg Tyr Ser
1 5

20 <210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 102

30 Thr Gln Ser Tyr Thr Leu Arg Thr
1 5

35 <210> 103
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 103

Ser Tyr Trp Met His
1 5

45 <210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Construcción sintética

ES 2 811 923 T3

<400> 104

Asn Phe Tyr Pro Gly Asp Leu Thr Val Asn Tyr Asp Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

5 <210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 105

Asp Ala Tyr Ser Arg Tyr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

15 <210> 106
<211> 17
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

25 <400> 106

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

30 <210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 107

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

40 <210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 108

50

ES 2 811 923 T3

Cys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

5 <210> 109
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
10
<400> 109

Asn Tyr Tyr Met His
1 5

15 <210> 110
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 110

Trp Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

25 Gly

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 111

Asp Gly Tyr Ser Leu Tyr Phe Phe Asp Phe
1 5 10

40 <210> 112
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 112

ES 2 811 923 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

5 <210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética

<400> 113

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

15 <210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 114

Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

25 <210> 115
<211> 5
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 115

Asn Tyr Tyr Thr His
1 5

40 <210> 116
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 116

Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Met
1 5 10 15

Gly

ES 2 811 923 T3

<210> 117
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 117

 Asp Ser Tyr Gly Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

 <210> 118
 15 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 118

 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

 Ala
 25
 <210> 119
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 119
 35

 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

 <210> 120
 40 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 45
 <400> 120

 Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
 1 5

 50 <210> 121
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

	<220>	
	<223> Construcción sintética	
5	<400> 121	
		Asn Tyr Tyr Thr His
		1 5
10	<210> 122	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 122	
		Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Met
		1 5 10 15
		Gly
20	<210> 123	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
25	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 123	
30		
		Asp Ser Tyr Gly Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
		1 5 10
35	<210> 124	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 124	
		Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
		1 5 10 15
		Ala
45	<210> 125	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	

<223> Construcción sintética

<400> 125

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

5

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 126

Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

20

<210> 127

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética

<400> 127

Asn Tyr Tyr Thr His
1 5

30

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 128

40

Trp Leu Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Construcción sintética

50

<400> 129

ES 2 811 923 T3

		Asp	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Phe	Phe	Asp	Tyr						
		1				5					10						
5	<210> 130																
	<211> 17																
	<212> PRT																
	<213> Secuencia artificial																
	<220>																
10	<223> Construcción sintética																
	<400> 130																
		Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
		1				5					10					15	
	Ala																
15	<210> 131																
	<211> 7																
	<212> PRT																
	<213> Secuencia artificial																
20	<220>																
	<223> Construcción sintética																
	<400> 131																
						Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser					
25						1				5							
	<210> 132																
	<211> 8																
30	<212> PRT																
	<213> Secuencia artificial																
	<220>																
	<223> Construcción sintética																
35	<400> 132																
						Lys	Gln	Ser	Phe	Ile	Leu	Arg	Thr				
						1				5							
40	<210> 133																
	<211> 5																
	<212> PRT																
	<213> Secuencia artificial																
	<220>																
45	<223> Construcción sintética																
	<400> 133																
						Ser	Tyr	Trp	Met	His							
50						1				5							
	<210> 134																

ES 2 811 923 T3

<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 134

Asn Ser Tyr Pro Gly Asp Leu Asn Val Asn Tyr Asp Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

10

<210> 135
<211> 10
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 135

Asp Ala Tyr Ser Arg Tyr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

25 <210> 136
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Construcción sintética

<400> 136

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

35 <210> 137
<211> 7
<212> PRT
40 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 137
45

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 138
<211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Construcción sintética
 <400> 138

 Cys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
 1 5
 10
 <210> 139
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 139
 20

 Ser Tyr Tyr Ile His
 1 5

 <210> 140
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 30
 <400> 140

 Trp Leu Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe Arg
 1 5 10 15
 Asp
 35
 <210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 141

 Asp Ser Ser Ala Ser Tyr Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10
 45
 <210> 142
 <211> 17
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 142

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ile Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

5

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 143

15

Trp Ala Ser Thr Arg Ala Ser
1 5

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Construcción sintética

25

<400> 144

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 145
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Construcción sintética

35

<400> 145

Ser Tyr Trp Met His
1 5

40

<210> 146
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 146

50

ES 2 811 923 T3

Asn Ile Tyr Pro Gly Gly Glu Ile Ile Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Thr

<210> 147
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 147

Asp Thr Thr Gly Asn Tyr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 148
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 148

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 149

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 150

ES 2 811 923 T3

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

5 <210> 151
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 151

Ser Cys Ala Ile Ser
1 5

15 <210> 152
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 152

25 Phe Met Ser Val Thr Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Ser
1 5 10 15

30 <210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 153

Val Gly Ile Gly Ser Gly Leu Asn Ile
1 5

40 <210> 154
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 154

Gln Ala Ser Glu Thr Val Tyr Ser Asn Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

50 <210> 155
<211> 7
<212> PRT
55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética
 5 <400> 155

 Gly Val Ser Thr Leu Asp Ser
 1 5

 10 <210> 156
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 156

 Ala Gly Tyr Lys Thr Ser Ser Ser Tyr Ala Ile Ala
 1 5 10

 20 <210> 157
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 157
 30
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn Met His
 1 5 10

 35 <210> 158
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 40
 <400> 158

 Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

 Gly

 45 <210> 159
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 159

ES 2 811 923 T3

Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

5 <210> 160
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

15 <210> 161
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 161

25

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

30 <210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 162

Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr
1 5

40 <210> 163
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 163

Arg Phe Gly Val His
1 5

50

<210> 164
<211> 16
<212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 5 <400> 164

 Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser
 1 5 10 15

 10 <210> 165
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 165

 Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser
 1 5 10 15
 20
 <210> 166
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 30 <400> 166

 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile Val Val
 1 5 10

 35 <210> 167
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 40 <223> Construcción sintética

 <400> 167

 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
 1 5

 45 <210> 168
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 168
 55

ES 2 811 923 T3

Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

5 <210> 169
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética

<400> 169

Asp Thr Tyr Ile His
1 5

15 <210> 170
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 170

Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

25

30 <210> 171
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 171

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

40 <210> 172
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 172

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

50

ES 2 811 923 T3

<210> 173
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 173
 10
 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 5
 <210> 174
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20
 <400> 174
 Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 175
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Construcción sintética
 30
 <400> 175
 Gly Phe Thr Ile Thr Asn Tyr Gly Ile His
 1 5 10
 35
 <210> 176
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética
 45
 <400> 176
 Gly Arg Ile Tyr Pro Asp Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15
 50
 <210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 177

Lys Leu Trp Ile Ser Ile Ala Gly Met Asp Tyr
1 5 10

5

<210> 178
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 178

15

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Construcción sintética

25

<400> 179

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

30

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 180

Gln His Ser Tyr Ala Thr Pro Phe Thr
1 5

40

<210> 181
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Construcción sintética

50

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Asp, Thr o Ser

55

<220>

<221> MISC_FEATURE

ES 2 811 923 T3

<222> (2)..(2)
<223> Xaa es Gly, Ala o Ser

$\langle 220 \rangle$

5

<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa es Arg o Asn

10

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa es Tyr o Ala

15

$\langle 220 \rangle$

```
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa es Tyr o Ala
```

20

<400> 181

Xaa Xaa Tyr Ser Xaa Xaa Xaa Phe Asp Tyr
1 5 10

25

<210> 182
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Construcción sintética

<220>

35

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Lys o Thr

40

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa es Gin o Ala

45

$\langle 220 \rangle$

<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa es Phe o Ala

50

$\langle 220 \rangle$

<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa es lie o Ala

55

<400> 182

Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Leu Arg Thr
1 5

60

5 <210> 183
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa es Ser o Thr
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa es Asn o Ala
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 25 <223> Xaa es Gin o Asp
 <220>
 30 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa es Lys o Ser
 <220>
 35 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa es Phe o Val
 <220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa es Asp o Gly
 45 <400> 183
 Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Xaa Thr Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
 1 5 10 15
 Xaa
 50 <210> 184
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Construcción sintética
 <400> 184

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 185

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 185

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 186

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 186

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

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

ES 2 811 923 T3

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 187

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 187

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 188

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 188

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 189

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 189

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

ES 2 811 923 T3

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 190
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 190

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 191
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 191

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 192

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 192

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

ES 2 811 923 T3

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 193
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 193

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ala Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

15 <210> 194
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 194

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

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

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

25

ES 2 811 923 T3

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 195

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 195

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 196

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 196

5

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 197

<211> 112

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 197

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

ES 2 811 923 T3

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Ala Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 198

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 198

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 199

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

ES 2 811 923 T3

<400> 199

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

5

<210> 200

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 200

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 201
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 201

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 202

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 202

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

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

ES 2 811 923 T3

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 203

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 203

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

ES 2 811 923 T3

<210> 204
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 204

10

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	20	25	30	
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	35	40	45	
Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Glu	Asn	Asp	Asn	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	50	55	60	
Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Asp	Gly	Tyr	Ser	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105	110	
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										115			

<210> 205
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 205

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly	1	5	10	15
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	20	25	30	
Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	35	40	45	

ES 2 811 923 T3

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 206

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 206

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 207

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 207

5

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 208

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 208

15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ES 2 811 923 T3

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

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

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

<210> 209
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 209

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 210
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 210

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

5 <210> 211
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 211

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

- 5 <210> 212
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> Construcción sintética
- <400> 212

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

<210> 213

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 213

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr

ES 2 811 923 T3

20

25

30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 214

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 214

ES 2 811 923 T3

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	20	25	30	
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	50	55	60	
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	65	70	75	80
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	85	90	95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	100	105	110	
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	115	120	125				

<210> 215

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 215

ES 2 811 923 T3

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 216

<211> 125

5 <212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 216

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

10

ES 2 811 923 T3

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 217
<211> 109
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 217

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 218
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 218

ES 2 811 923 T3

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr	20	25	30	
Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Asn	Thr	Gly	Lys	Pro	Thr	Tyr	Ala	Glu	Glu	Phe	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Ile	Cys	Ser	Leu	Lys	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Arg	Gly	Asp	Tyr	Arg	Tyr	Ala	Trp	Phe	Leu	Tyr	Trp	Gly	Gln	100	105	110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	115	120										

- 5 <210> 219
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Construcción sintética
- <400> 219

ES 2 811 923 T3

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Thr
85 90 95

His Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

- 5 <210> 220
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 220

ES 2 811 923 T3

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 221

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 221

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

Thr Val Ile Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

ES 2 811 923 T3

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Ser Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Val Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Asp Ala Met Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Thr
85 90 95

His Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val
100 105

<210> 222

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 222

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

ES 2 811 923 T3

<210> 223
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 223

10

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 224
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 224

20

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

ES 2 811 923 T3

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 225
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 225

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 226
<211> 117
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 226

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Ser Ser Ser Thr Ala Asn
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn His Asp Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 227
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<400> 227

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95

ES 2 811 923 T3

Ser Tyr Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 228
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 228

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Ala Ile His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Asp Ser Ser Gly Tyr Val Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 229
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 229

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly
20 25 30

ES 2 811 923 T3

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Tyr Leu Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 230

<211> 119

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 230

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Ala Ile His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Phe Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Glu Ile Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Asp Ser Ser Gly Tyr Val Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 231

<211> 112

<212> PRT

ES 2 811 923 T3

<213> *Mus musculus*

<400> 231

Asn	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Ala	Gly	
1				5					10					15		
Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Ser	Gly	
			20					25					30			
Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	
		35					40					45				
Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val	
	50					55					60					
Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	
65					70					75					80	
Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Lys	Gln	
				85					90					95		
Ser	Tyr	Tyr	Leu	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	
			100					105					110			

5

<210> 232

<211> 119

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 232

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Glu Asp Ser Ser Gly Tyr Val Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 233
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 233

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Tyr Leu Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 234

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 234

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Arg Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ile Arg Asp Thr Met Val Arg Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 235

<211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 235

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100

105

110

Lys

- 5 <210> 236
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 236

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Phe Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 237

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 237

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 238

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 238

ES 2 811 923 T3

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

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

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Val Trp Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asn Val Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Thr Thr Val Thr Ala Asp Arg Ser Ser Thr Thr Val His
65 70 75 80

Met Phe Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Leu Thr Val Ser Ser

115

- 5 <210> 239
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> Construcción sintética
- <400> 239

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Thr Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 240

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 240

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

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

ES 2 811 923 T3

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 241
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 241

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 242
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 242

5

```

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

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

Tyr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
          35          40          45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
          50          55          60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Ser Ser Ser Thr Ala Asn
65          70          75          80

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

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

Leu Thr Val Ser Ser
          115

```

<210> 243

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 243

10

15

```

Gly Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1          5          10          15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
          20          25          30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
          35          40          45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
          50          55          60

```

ES 2 811 923 T3

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 244

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 244

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 245

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 245

ES 2 811 923 T3

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

Thr Val Ile Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Ser Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Val Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Asp Ala Met Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Thr
 85 90 95

His Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val
 100 105

<210> 246

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 246

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

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

Tyr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Asn Thr Lys Phe Asn Asp Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

ES 2 811 923 T3

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 247
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 247

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Thr Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ile
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Tyr Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Arg Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Tyr Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 248
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 248

ES 2 811 923 T3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Phe Tyr Pro Gly Asp Leu Thr Val Asn Tyr Asp Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Lys Val Thr Leu Ala Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Asp Ala Tyr Ser Arg Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115

- 5 <210> 249
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 249

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Cys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 250

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 250

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 251

<211> 112

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 251

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

ES 2 811 923 T3

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 252

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 252

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Ser Phe Ile Asn Tyr
20 25 30

Tyr Thr His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Met Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala His
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 253

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5 <400> 253

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 254

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 254

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Asn Phe Ile Asn Tyr
20 25 30

Tyr Thr His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Met Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala His
65 70 75 80

ES 2 811 923 T3

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 255
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 255

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 256
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 256

ES 2 811 923 T3

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Ala Asn Tyr
20 25 30

Tyr Thr His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Leu Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Ser
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Ile Val Ser Ser
115

- 5 <210> 257
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> Construcción sintética
- <400> 257

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

- 5 <210> 258
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 258

ES 2 811 923 T3

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

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

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

Gly Asn Ser Tyr Pro Gly Asp Leu Asn Val Asn Tyr Asp Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Asn Lys Val Thr Leu Ala Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 259
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 259

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

ES 2 811 923 T3

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Cys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 260

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 260

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

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

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

Gly Trp Leu Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Arg Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 261

ES 2 811 923 T3

<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 261

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Met Val Thr Leu His Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ile
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

10

<210> 262
<211> 119
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 262

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

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

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

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Gly Glu Ile Ile Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

ES 2 811 923 T3

Lys Thr Lys Gly Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 263

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 263

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 264

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 264

ES 2 811 923 T3

Gln Ser Val Lys Glu Ser Glu Gly Gly Leu Phe Lys Pro Thr Asp Thr
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Cys Ser Leu Ser Ser Cys Ala
20 25 30

Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Phe Met Ser Val Thr Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Ser
50 55 60

Arg Ser Thr Ile Thr Arg Asn Thr Asn Glu Asn Thr Val Thr Leu Lys
65 70 75 80

Met Thr Arg Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Arg
85 90 95

Val Gly Ile Gly Ser Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 265

<211> 110

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 265

Asp Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Lys Ser Val Pro Val Gly Asp Thr
1 5 10 15

Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Thr Val Tyr Ser Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Val Ser Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys
65 70 75 80

ES 2 811 923 T3

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Tyr Lys Thr Ser Ser Ser
85 90 95

Tyr Ala Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Leu
100 105 110

<210> 266
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 266

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

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

<210> 267
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 267

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

ES 2 811 923 T3

1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala 25	Ser	Ser	Ser	Val	Ser 30	Tyr	Met
His	Trp	Tyr 35	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly 40	Lys	Ala	Pro	Lys	Pro 45	Leu	Ile	Tyr
Ala	Pro 50	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser 55	Gly	Val	Pro	Ser	Arg 60	Phe	Ser	Gly	Ser
Gly 65	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe 70	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser 75	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu 80
Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr 85	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp 90	Ser	Phe	Asn	Pro	Pro 95	Thr
Phe	Gly	Gln	Gly 100	Thr	Lys	Val	Glu	Ile 105	Lys						

<210> 268
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 268

ES 2 811 923 T3

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Leu Lys Val Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ile Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

- 5 <210> 269
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> Construcción sintética
- <400> 269

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Ile Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile
20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 270

<211> 120

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

ES 2 811 923 T3

35

40

45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 271

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 271

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 272

<211> 120

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 272

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Ile	Thr	Asn	Tyr	20	25	30	
Gly	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Gly	Arg	Ile	Tyr	Pro	Asp	Ser	Gly	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Lys	Leu	Trp	Ile	Ser	Ile	Ala	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	100	105	110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	115	120										

<210> 273
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 273

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Tyr Ala Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

- 5 <210> 274
- <211> 340
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética
- <400> 274

ES 2 811 923 T3

Gln	Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Gly	Ile	Thr	Gln	Thr	Pro	Tyr	Lys	1	5	10	15
Val	Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr	Cys	Pro	Gln	Tyr	Pro	20	25	30	
Gly	Ser	Glu	Ile	Leu	Trp	Gln	His	Asn	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Gly	Asp	35	40	45	
Glu	Asp	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp	Glu	Asp	His	Leu	Ser	Leu	Lys	50	55	60	
Glu	Phe	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Val	Cys	Tyr	Pro	Arg	65	70	75	80
Gly	Ser	Lys	Pro	Glu	Asp	Ala	Asn	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Met	Ala	Arg	85	90	95	
Val	Ala	Glu	Asn	Ser	Met	Glu	Met	Asp	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	100	105	110	
Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	115	120	125	
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	130	135	140	
Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	145	150	155	160

ES 2 811 923 T3

Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu
165 170 175

Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr
180 185 190

Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser
195 200 205

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
210 215 220

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
225 230 235 240

Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val
245 250 255

Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val
260 265 270

Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu
275 280 285

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg
290 295 300

Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val
305 310 315 320

Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
325 330 335

Thr Pro Gly Lys
340

<210> 275
<211> 333
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 275

Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys Val Tyr Asp Tyr Gln Glu
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Asp	Gly	Ser	Val 20	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp 25	Ala	Glu	Ala	Lys	Asn 30	Ile	Thr
Trp	Phe	Lys 35	Asp	Gly	Lys	Met	Ile 40	Gly	Phe	Leu	Thr	Glu 45	Asp	Lys	Lys
Lys	Trp	Asn 50	Leu	Gly	Ser	Asn 55	Ala	Lys	Asp	Pro	Arg 60	Gly	Met	Tyr	Gln
Cys 65	Lys	Gly	Ser	Gln	Asn 70	Lys	Ser	Lys	Pro	Leu 75	Gln	Val	Tyr	Tyr	Arg 80
Met	Ala	Gln	Asn	Ala 85	Ile	Glu	Leu	Asn	Ala 90	Ala	Thr	Ile	Ser	Lys 95	Val
Thr	Asp	Lys	Ile 100	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro 105	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys 110	Pro	Pro
Cys	Lys	Cys 115	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu 120	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser 125	Val	Phe	Ile
Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp 135	Val	Leu	Met	Ile	Ser 140	Leu	Ser	Pro	Ile
Val 145	Thr	Cys	Val	Val	Val 150	Asp	Val	Ser	Glu	Asp 155	Asp	Pro	Asp	Val	Gln 160
Ile	Ser	Trp	Phe 165	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val 170	His	Thr	Ala	Gln	Thr 175	Gln
Thr	His	Arg	Glu 180	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr 185	Leu	Arg	Val	Val	Ser 190	Ala	Leu
Pro	Ile	Gln 195	His	Gln	Asp	Trp	Met 200	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe 205	Lys	Cys	Lys
Val 210	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro 215	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg 220	Thr	Ile	Ser	Lys
Pro 225	Lys	Gly	Ser	Val	Arg 230	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr 235	Val	Leu	Pro	Pro	Pro 240
Glu	Glu	Glu	Met	Thr 245	Lys	Lys	Gln	Val	Thr 250	Leu	Thr	Cys	Met	Val 255	Thr
Asp	Phe	Met	Pro 260	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val 265	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn 270	Gly	Lys

ES 2 811 923 T3

Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
275 280 285

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val
290 295 300

Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
305 310 315 320

His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 276

<211> 331

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 276

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Gln
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Ser Gln His Leu
20 25 30

Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys Asn Lys Glu Asp Ser
35 40 45

Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu Met Glu Gln Ser Gly
50 55 60

Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro Glu Asp Ala Ser His
65 70 75 80

His Leu Tyr Leu Met Ala Arg Val Ala Glu Asn Pro Met Glu Met Asp
85 90 95

Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr
130 135 140

ES 2 811 923 T3

Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser
145 150 155 160

Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His
165 170 175

Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile
180 185 190

Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn
195 200 205

Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
210 215 220

Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
245 250 255

Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu
260 265 270

Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
275 280 285

Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg
290 295 300

Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
305 310 315 320

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 277

<211> 332

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 277

Gln Ser Phe Glu Glu Asn Arg Lys Leu Asn Val Tyr Asn Gln Glu Asp
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Gly	Ser	Val	Leu	Leu	Thr	Cys	His	Val	Lys	Asn	Thr	Asn	Ile	Thr	Trp	20	25	30
Phe	Lys	Glu	Gly	Lys	Met	Ile	Asp	Ile	Leu	Thr	Ala	His	Lys	Asn	Lys	35	40	45
Trp	Asn	Leu	Gly	Ser	Asn	Thr	Lys	Asp	Pro	Arg	Gly	Val	Tyr	Gln	Cys	50	55	60
Lys	Gly	Ser	Lys	Asp	Lys	Ser	Lys	Thr	Leu	Gln	Val	Tyr	Tyr	Arg	Met	65	70	75
Ala	Gln	Asn	Ala	Ile	Glu	Leu	Asn	Ala	Ala	Thr	Ile	Ser	Lys	Val	Thr	85	90	95
Asp	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	100	105	110
Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	115	120	125
Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	130	135	140
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	145	150	155
Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	165	170	175
His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	180	185	190
Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	195	200	205
Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	210	215	220
Lys	Gly	Ser	Val	Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro	Glu	225	230	235
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Met	Val	Thr	Asp	245	250	255
Phe	Met	Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	260	265	270

ES 2 811 923 T3

Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
275 280 285

Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu
290 295 300

Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His
305 310 315 320

His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 278

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 278

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys
20 25

<210> 279

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 279

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Gln
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys
20 25

<210> 280

<211> 254

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 280

ES 2 811 923 T3

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
 1 5 10 15
 Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Asp Lys Thr His Thr
 20 25 30
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 35 40 45
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 50 55 60
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 85 90 95
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 100 105 110
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 115 120 125
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 130 135 140
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 145 150 155 160
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 165 170 175
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 180 185 190
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 195 200 205
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 210 215 220
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 225 230 235 240
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 281
 <211> 254

ES 2 811 923 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción sintética

<400> 281

Gln	Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Ser	Ile	Thr	Gln	Thr	Pro	Tyr	Gln	1	5	10	15
Val	Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr	Asp	Lys	Thr	His	Thr	20	25	30	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	35	40	45	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	50	55	60	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	65	70	75	80
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	85	90	95	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	100	105	110	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	115	120	125	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	130	135	140	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	145	150	155	160
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	165	170	175	
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	180	185	190	
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	195	200	205	

ES 2 811 923 T3

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
210 215 220

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
225 230 235 240

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 282

<211> 205

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 282

ES 2 811 923 T3

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
20 25 30

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
35 40 45

Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
50 55 60

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65 70 75 80

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
85 90 95

Val Asp Asp Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys
100 105 110

Asp Asp Ala Lys Lys Asp Asp Ala Lys Lys Asp Gly Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Lys Gly Asn His Leu Val Lys Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser
130 135 140

Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys
145 150 155 160

Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn

165

170

175

Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp Pro Arg Gly Met Tyr Cys Lys Gly Ser
180 185 190

Gln Asn Lys Ser Lys Pro Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met
195 200 205

5 <210> 283
<211> 27
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

ES 2 811 923 T3

<400> 283

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
20 25

5 <210> 284
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 284

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

15 <210> 285
<211> 119
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

25 <400> 285

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

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

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

ES 2 811 923 T3

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 286

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 286

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 287

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 287

5

```

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Arg Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50           55           60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ser Phe Ala Tyr
65           70           75           80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115

```

<210> 288

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 288

15

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1           5           10           15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
          20           25           30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
          35           40           45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50           55           60

```

ES 2 811 923 T3

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 289

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 289

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Arg Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 290

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 290

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 291

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 291

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Leu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys
85 90 95

ES 2 811 923 T3

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 292
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 292

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Tyr Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 293
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 293

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

ES 2 811 923 T3

		20		25		30	
5	<210> 294 <211> 14 <212> PRT <213> Secuencia artificial						
10	<220> <223> Construcción sintética <400> 294						
		Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly					
		1		5		10	
15	<210> 295 <211> 32 <212> PRT <213> Secuencia artificial						
20	<220> <223> Construcción sintética <400> 295						
		Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln					
		1		5		10	15
		Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg					
			20		25		30
25							
30	<210> 296 <211> 11 <212> PRT <213> Secuencia artificial						
	<220> <223> Construcción sintética						
35	<400> 296						
		Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser					
		1		5		10	
40	<210> 297 <211> 23 <212> PRT <213> Secuencia artificial						
45	<220> <223> Construcción sintética <400> 297						
		Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly					
		1		5		10	15
50							

ES 2 811 923 T3

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

5 <210> 298
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 298

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

15 <210> 299
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 299

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

25 <210> 300
<211> 10
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 300

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

40 <210> 301
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 301

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

50

ES 2 811 923 T3

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

<210> 302

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 302

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 303

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 303

Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 304

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 305

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 305

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

ES 2 811 923 T3

5 <210> 306
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 306
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 15 <210> 307
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Construcción sintética
 <400> 307
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 25 <210> 308
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 308
 35 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10
 40 <210> 309
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 45 <400> 309
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr
 20 25 30
 50

ES 2 811 923 T3

<210> 310
 <211> 14
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 310

 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 1 5 10

 <210> 311
 15 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 311

 Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
 1 5 10 15

 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30
 25
 <210> 312
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 312
 35
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

 <210> 313
 <211> 23
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 45
 <400> 313

 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
 20
 50 <210> 314

ES 2 811 923 T3

<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 314

10 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 315
<211> 32
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 315

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

25 <210> 316
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Construcción sintética

<400> 316

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

35 <210> 317
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética

45 <400> 317

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
20 25 30

<210> 318
<211> 14

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 318

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 319
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 319

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 320
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 320

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 321
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 321

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 322
<211> 15
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 322

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

10

<210> 323

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 323

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr
1				5					10					15	

20

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 324

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30

<400> 324

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys
1				5					10

35

<210> 325

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Construcción sintética

<400> 325

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr
			20					25					30

45

<210> 326

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

5 <400> 326

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 327

10 <211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Construcción sintética

<400> 327

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

20 <210> 328
<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 328

30

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 329

35 <211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Construcción sintética

<400> 329

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

45 <210> 330

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 330

5

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 331

<211> 32

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 331

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

20

<210> 332

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 332

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

30

<210> 333

<211> 30

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 333

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
20 25 30

45

<210> 334

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 334

5

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 335

<211> 32

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 335

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

20

<210> 336

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 336

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

30

<210> 337

<211> 23

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 337

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

45

<210> 338

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 338

5

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 339

<211> 32

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 339

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

20

<210> 340

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 340

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

30

<210> 341

<211> 30

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 341

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
20 25 30

45

<210> 342

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 342	
5		Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
		1 5 10
	<210> 343	
	<211> 32	
10	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
15	<400> 343	
		Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
		1 5 10 15
		Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
		20 25 30
20	<210> 344	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
25	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 344	
		Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
30		1 5 10
	<210> 345	
	<211> 22	
	<212> PRT	
35	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
40	<400> 345	
		Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
		1 5 10 15
		Thr Val Thr Leu Thr Cys
		20
45	<210> 346	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
50	<223> Construcción sintética	

<400> 346

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
1 5 10 15

5

<210> 347

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 347

15

Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala
1 5 10 15

Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 348

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Construcción sintética

25

<400> 348

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

30

<210> 349

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 349

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
20 25 30

40

<210> 350

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 350

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

5 <210> 351
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 351

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

15 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
20 25 30

<210> 352
<211> 11
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

25 <400> 352

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

30 <210> 353
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 353

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys
20

40 <210> 354
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 354

ES 2 811 923 T3

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
1 5 10 15

5 <210> 355
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 355

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala
1 5 10 15

Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys
20 25 30

15 <210> 356
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 356

25 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

30 <210> 357
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 357

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

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

40 <210> 358
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 358

ES 2 811 923 T3

		Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly		
		1				5					10						
5	<210>	359															
	<211>	32															
	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
10	<223>	Construcción sintética															
	<400>	359															
		Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
		1				5					10					15	
		Ile	Cys	Ser	Leu	Lys	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
					20					25					30		
15	<210>	360															
	<211>	11															
	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
20	<220>																
	<223>	Construcción sintética															
	<400>	360															
25		Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
		1				5					10						
	<210>	361															
	<211>	22															
	<212>	PRT															
30	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
	<223>	Construcción sintética															
35	<400>	361															
		Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
		1				5					10					15	
		Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys										
					20												
40	<210>	362															
	<211>	15															
	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
45	<223>	Construcción sintética															
	<400>	362															
		Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Thr	Leu	Ile	Tyr	
		1				5					10					15	

<210> 363
 <211> 32
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 363

 Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala
 1 5 10 15

 Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys
 20 25 30

 <210> 364
 15 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 364

 Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 25 1 5 10

 <210> 365
 30 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Construcción sintética

 <400> 365

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

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

 <210> 366
 40 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> Construcción sintética

 <400> 366

ES 2 811 923 T3

Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly
1 5 10

<210> 367

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 367

Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Thr Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 368

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 368

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10

<210> 369

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 369

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

Thr Val Ile Leu Thr Cys
20

<210> 370

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 370

ES 2 811 923 T3

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
1 5 10 15

<210> 371
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 371

Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala
1 5 10 15

Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Asp Ala Met Tyr Phe Cys
20 25 30

<210> 372
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 372

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val
1 5

<210> 373
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 373

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

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

<210> 374
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 374

ES 2 811 923 T3

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 375
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 375

Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 376
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 376

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 377
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 377

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 378
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 378

ES 2 811 923 T3

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 379

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 379

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 380

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 380

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 381

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 381

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

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

<210> 382

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 382

ES 2 811 923 T3

Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

5 <210> 383
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 383

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Ser Ser Ser Thr Ala Asn Met Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

15 <210> 384
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 384

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

25 <210> 385
<211> 23
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 385

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

40 <210> 386
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 386

ES 2 811 923 T3

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

5 <210> 387
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 387

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

15 <210> 388
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 388

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

30 <210> 389
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 389

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

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

40 <210> 390
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 390

ES 2 811 923 T3

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

5 <210> 391
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 391

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

15 <210> 392
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 392

25 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

30 <210> 393
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 393

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

40 <210> 394
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 394

ES 2 811 923 T3

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

5 <210> 395
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 395

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

15 <210> 396
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 396

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

30 <210> 397
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 397

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

40 <210> 398
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 398

ES 2 811 923 T3

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 399
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 399

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 400
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 400

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 401
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 401

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 402
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 402

ES 2 811 923 T3

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 403
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 403

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 404
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 404

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 405
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 405

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 406
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 406

ES 2 811 923 T3

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 407

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 407

Arg Leu Ser Phe Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Glu
1 5 10 15

Ile Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 408

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 408

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 409

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 409

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

<210> 410

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 410

ES 2 811 923 T3

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 411
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 411

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 412
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 412

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 413
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 413

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser
20 25

<210> 414
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 414

ES 2 811 923 T3

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

5 <210> 415
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 415

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
1 5 10 15

15 <210> 416
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 416

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

25 <210> 417
<211> 23
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 417

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

40 <210> 418
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 418

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

50 <210> 419

<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 419

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

10

15 <210> 420
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 420

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

25 <210> 421
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 421

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30

35 <210> 422
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética

45 <400> 422

Trp Val Arg Gln Ala Ser Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 423

ES 2 811 923 T3

<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 423

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	

Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ile	Arg
			20					25					30		

10

<210> 424
<211> 11
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 424

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

25 <210> 425
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 425

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5					10					15	

Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys
			20			

35

<210> 426
<211> 15
<212> PRT
40 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 426

45

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 427
<211> 32

ES 2 811 923 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 427

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 428
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 428

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 429
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 429

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

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

<210> 430
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 430

Trp Met Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 431
<211> 32
<212> PRT

ES 2 811 923 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 431

Lys Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

10

<210> 432

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 432

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

20

<210> 433

<211> 23

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30

<400> 433

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

35

<210> 434

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 434

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

45

<210> 435

<211> 32

<212> PRT

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
5	<400> 435	
	Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr	
	1 5 10 15	
	Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys	
10	20 25 30	
	<210> 436	
	<211> 10	
	<212> PRT	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
20	<400> 436	
	Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
	1 5 10	
25	<210> 437	
	<211> 30	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Construcción sintética	
	<400> 437	
	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
	1 5 10 15	
	Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	
	20 25 30	
35	<210> 438	
	<211> 14	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 438	
45		
	Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Val	
	1 5 10	
	<210> 439	

ES 2 811 923 T3

<211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 439
 10 Lys Thr Thr Val Thr Ala Asp Arg Ser Ser Thr Thr Val His Met Phe
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30
 15 <210> 440
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 440
 25 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 1 5 10
 30 <210> 441
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 441
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Thr Met Asn Cys
 20
 40 <210> 442
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 442
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 50 <210> 443
 <211> 32

ES 2 811 923 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 443

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 444
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 444

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 445
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 445

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

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

<210> 446
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 446

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 447

ES 2 811 923 T3

<211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 447

10

Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln
1				5					10					15	

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 20 25 30

15

<210> 448
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 448

25

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

30

<210> 449
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 449

35

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
 20

40

<210> 450
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

45

<400> 450

50

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 451
 <211> 32
 <212> PRT

ES 2 811 923 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 451

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

10

<210> 452

<211> 10

<212> PRT

15

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

20

<400> 452

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

25

<210> 453

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30

<223> Construcción sintética

<400> 453

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

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

35

<210> 454

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 454

45

Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 455

<211> 32

50

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 455

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Ser Ser Ser Thr Ala Asn Met Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

10

<210> 456

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 456

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

20

<210> 457

<211> 23

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30

<400> 457

Gly Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

35

<210> 458

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Construcción sintética

<400> 458

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

45

<210> 459

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5 <400> 459

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 460

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Construcción sintética

<400> 460

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

20 <210> 461

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Construcción sintética

<400> 461

30 <210> 461

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

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

<210> 462

35 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Construcción sintética

<400> 462

Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly
1 5 10

45 <210> 463

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5 <400> 463

Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 464

10 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Construcción sintética

<400> 464

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10

20 <210> 465

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Construcción sintética

<400> 465

30 <210> 466

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 466

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

Thr Val Ile Leu Thr Cys
20

<210> 467

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 467

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
1 5 10 15

45 <210> 468

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 467

5

Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala
1 5 10 15

Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Asp Ala Met Tyr Phe Cys
20 25 30

<210> 468

<211> 9

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 468

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val
1 5

20

<210> 469

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 469

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

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

30

<210> 470

<211> 14

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 470

Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

45

<210> 471

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 811 923 T3

<223> Construcción sintética

<400> 471

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

5 Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 472

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 472

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 473

20 <211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética

<400> 473

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Thr Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

30 <210> 474

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 474

40

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe
1 5 10 15

<210> 475

<211> 32

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

50

ES 2 811 923 T3

<400> 475

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Arg Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

5 <210> 476
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 476

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
15 1 5 10

<210> 477
<211> 30
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

25 <400> 477

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

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

30 <210> 478
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 478

Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
40 1 5 10

<210> 479
<211> 32
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 479

50

ES 2 811 923 T3

Lys Val Thr Leu Ala Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe Leu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

<210> 480

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 480

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 481

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 481

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

<210> 482

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 482

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 483

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 483

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 484

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 484

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 485

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 485

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

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

<210> 486

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 486

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 487

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 487

ES 2 811 923 T3

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 488

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 488

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 489

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 489

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 490

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 490

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 491

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 491

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 492

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 492

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 493

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 493

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

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

<210> 494

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 494

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 495

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 495

ES 2 811 923 T3

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala His Met His
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Val Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 496
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 496

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 497
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 497

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

<210> 498
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 498

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 499
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 499

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 500
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 500

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 501
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 501

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Asn Phe Ile
20 25 30

<210> 502
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 502

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 503
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 503

ES 2 811 923 T3

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Thr Ala His Met His
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Val Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 504

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 504

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 505

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 505

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 506

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 506

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 507

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 507

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

5 <210> 508
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 508

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

15 <210> 509
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 509

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Ala
20 25 30

30 <210> 510
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 510

Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

40 <210> 511
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 511

ES 2 811 923 T3

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Ser Met Gln
1 5 10 15

Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

<210> 512

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 512

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Ile Val Ser Ser
1 5 10

<210> 513

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 513

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

<210> 514

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 514

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe
1 5 10 15

<210> 515

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 515

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 516
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 516

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 517
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 517

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

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

<210> 518
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 518

Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 519
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 519

ES 2 811 923 T3

Lys Val Thr Leu Ala Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe Leu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

5 <210> 520
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 520

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

15 <210> 521
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 521

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

25 <210> 522
<211> 15
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 522

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

40 <210> 523
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 523

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 524

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 524

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 525

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 525

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 526

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 526

Trp Met Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 527

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 527

ES 2 811 923 T3

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 528

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 528

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 529

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 529

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Met Val Thr Leu His Cys
20

<210> 530

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 530

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 531

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 531

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 532
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 532

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 533
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 533

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

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

<210> 534
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 534

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 535
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 535

ES 2 811 923 T3

Lys Gly Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

<210> 536

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 536

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 537

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 537

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys
20

<210> 538

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 538

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 539

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 539

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 540

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 540

Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 541

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 541

Gln Ser Val Lys Glu Ser Glu Gly Gly Leu Phe Lys Pro Thr Asp Thr
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Cys Ser Leu Ser
20 25

<210> 542

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 542

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 543

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 543

ES 2 811 923 T3

Arg Ser Thr Ile Thr Arg Asn Thr Asn Glu Asn Thr Val Thr Leu Lys
1 5 10 15

Met Thr Arg Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 544

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 544

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 545

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 545

Asp Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Lys Ser Val Pro Val Gly Asp Thr
1 5 10 15

Val Thr Ile Asn Cys
20

<210> 546

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 546

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 547

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 547

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Asp Val Val Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

5
<210> 548
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Construcción sintética

<400> 548

15
Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Leu
1 5 10

20
<210> 549
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 549

25
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
20 25 30

30
<210> 550
<211> 49
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35
<400> 550

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Ala

ES 2 811 923 T3

<210> 551
 <211> 58
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <400> 551

 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly
 1 5 10 15

 Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala
 20 25 30

 Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 35 40 45

 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg
 50 55

 15 <210> 552
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 552

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 25 1 5 10

 30 <210> 553
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 35
 <400> 553

 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

 40 <210> 554

<211> 49
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 554

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr

10

15 <210> 555
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

20 <400> 555

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

25 <210> 556
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Construcción sintética

<400> 556

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

35 <210> 557
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Construcción sintética

ES 2 811 923 T3

<400> 557

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

5

<210> 558

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 558

15

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 559

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Construcción sintética

25

<400> 559

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

30

20

25

30

<210> 560

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 560

40

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 561

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Construcción sintética

50

<400> 561

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

5

<210> 562

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 562

15

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 563

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Construcción sintética

25

<400> 563

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

30

<210> 564

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 564

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

45

<210> 565

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

50

<400> 565

ES 2 811 923 T3

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 566
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 566

Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 567
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 567

Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys
1 5 10 15

Leu Asn Ser Leu Lys Val Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ser Asn
20 25 30

<210> 568
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 568

Trp Gly Gln Gly Ile Ser Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 569
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 569

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Ile Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys
20

<210> 570
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 570

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Asn Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 571
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 571

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 572
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 572

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 573
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 573

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 574
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 574

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 575
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 575

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala

1 5 10 15

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
20 25 30

Cys Ala Arg
35

<210> 576
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 576

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 577
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 577

5

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 578

<211> 15

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 578

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

20

<210> 579

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 579

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

30

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 580

<211> 11

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 580

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

45

<210> 581

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 581

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Met Asp
1 5 10

5

<210> 582

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 582

Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 583

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética

<400> 583

Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

30

<210> 584

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 584

40

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly Val Ala
1 5 10

<210> 585

45 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

50

<400> 585

ES 2 811 923 T3

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

5 <210> 586
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 586

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5

15 <210> 587
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 587

Gly Tyr Trp Met Asn
1 5

25 <210> 588
<211> 17
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 588

Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Ile Arg Ala Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Asp

40 <210> 589
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 589

Gly Thr Tyr Asp Gly Gly Phe Glu Tyr
1 5

50 <210> 590
<211> 15

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Construcción sintética

 <400> 590

 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Gly Ser Arg Phe Thr Tyr Met His
 1 5 10 15

 10
 <210> 591
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15
 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 591

 20

 Tyr Ala Ser Ile Leu Glu Ser
 1 5

 <210> 592
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 30
 <400> 592

 Gln His Ser Trp Glu Ile Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

 35
 <210> 593
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40
 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 593

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 594

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

10

<400> 594

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 595

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 595

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Trp Met Asn Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Ile Arg Ala Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

ES 2 811 923 T3

Ala Arg Gly Thr Tyr Asp Gly Gly Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 596
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 596

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Val Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Gly Ser
20 25 30

Arg Phe Thr Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Ile Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp
85 90 95

Glu Ile Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 597
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 597

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

ES 2 811 923 T3

<210> 598
 <211> 14
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 10 <400> 598

 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 1 5 10

 <210> 599
 15 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 599

 Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30
 25
 <210> 600
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 600
 35

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

 <210> 601
 40 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 45
 <400> 601

 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

5 <210> 602
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 602

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

15 <210> 603
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 603

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

25 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

30 <210> 604
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 604

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

40 <210> 605
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 605

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

50

ES 2 811 923 T3

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

<210> 606
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 606

Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 607
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 607

Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 608
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 608

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 609
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 609

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Val Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys
20

5 <210> 610
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 610

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Lys
1 5 10 15

15 <210> 611
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 611

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

25 Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

30 <210> 612
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
35 <400> 612

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

40 <210> 613
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 613

Ser Asp Tyr Val Trp Asn
1 5

50 <210> 614

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 614
 Tyr Ile His Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15
 10
 <210> 615
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20 <400> 615
 Gly Asn Tyr Asp Trp Ala Phe Ala Tyr
 1 5
 25
 <210> 616
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Construcción sintética
 <400> 616
 Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
 1 5 10
 35
 <210> 617
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 617
 45
 Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5
 50
 <210> 618
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 55
 <400> 618

ES 2 811 923 T3

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp Thr
1 5

5 <210> 619
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 619

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Val Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15 <210> 620
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

25 <400> 620

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

ES 2 811 923 T3

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 621
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 621

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

<210> 622
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética
<400> 622

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 623
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

ES 2 811 923 T3

<400> 623

Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

5

<210> 624

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 624

15

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 625

<211> 23

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

25

<400> 625

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

30

<210> 626

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 626

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile Ser
1 5 10 15

40

<210> 627

<211> 32

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

50

<400> 627

ES 2 811 923 T3

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

5 <210> 628
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 628

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

15 <210> 629
<211> 471
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 629

25 Met Lys Lys Asn Ile Ala Phe Leu Leu Ala Ser Met Phe Val Phe Ser
1 5 10 15

Ile Ala Thr Asn Ala Tyr Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro
20 25 30

Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
35 40 45

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Val Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro
50 55 60

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Gly
65 70 75 80

Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp
85 90 95

Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala

ES 2 811 923 T3

100	105	110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Tyr Asp Trp Ala Phe 115 120 125		
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr 130 135 140		
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser 145 150 155 160		
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu 165 170 175		
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His 180 185 190		
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser 195 200 205		
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys 210 215 220		
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu 225 230 235 240		
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro 245 250 255		
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys 260 265 270		
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val 275 280 285		
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp 290 295 300		
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 305 310 315 320		
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp 325 330 335		
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu 340 345 350		

ES 2 811 923 T3

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
355 360 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
370 375 380

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385 390 395 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 630

<211> 237

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

10

<400> 630

ES 2 811 923 T3

```

Met Lys Lys Asn Ile Ala Phe Leu Leu Ala Ser Met Phe Val Phe Ser
1           5           10           15

Ile Ala Thr Asn Ala Tyr Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
          20           25           30

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
          35           40           45

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
          50           55           60

Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile Ser Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
65           70           75           80

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
          85           90           95

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
          100          105          110

Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
          115          120          125

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
          130          135          140

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
145          150          155          160

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
          165          170          175

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
          180          185          190

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
          195          200          205

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
          210          215          220

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225          230          235

```

5 <210> 631
 <211> 5
 <212> PRT

ES 2 811 923 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 5 <400> 631

Asp Tyr Tyr Ile His
 1 5

10 <210> 632
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 632

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Arg Phe Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

20 **Gly**
 <210> 633
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 30 <400> 633

Asp Ser Tyr Gly Asn Tyr Phe Phe Asp Tyr
 1 5 10

35 <210> 634
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Construcción sintética
 <400> 634

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

45 **Ala**
 <210> 635
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

ES 2 811 923 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 635

5

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 636

<211> 9

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 636

Cys Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

20

<210> 637

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 637

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

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Arg Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Ser
65 70 75 80

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

30

<210> 638

ES 2 811 923 T3

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 638

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15

10 Glu Gln Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Asn Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Phe Tyr Tyr Cys Thr Gln
 85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

15 <210> 639
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 639

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Val Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 640
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 640

ES 2 811 923 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Tyr Thr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 641

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 641

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

ES 2 811 923 T3

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 642

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 642

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 643

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 643

ES 2 811 923 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
20 25 30

5 <210> 644
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 644

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

15 <210> 645
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 645

25 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
20 25 30

30 <210> 646
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 646

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

40 <210> 647
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 647

ES 2 811 923 T3

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys
20

<210> 648

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 648

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 649

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 649

Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala
1 5 10 15

Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 650

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 650

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo anti-CD3 que comprende un primer dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 185 y un brazo anti-CD20 que comprende un segundo dominio de unión que comprende (a) un dominio VH que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266 y (b) un dominio VL que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 267.
2. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 1, en donde (a) el brazo anti-CD3 comprende las mutaciones de sustitución T366S, L368A, Y407V y N297G y (b) el brazo anti-CD20 comprende las mutaciones de sustitución T366W y N297G.
3. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, en donde el dominio de unión se une a un polipéptido de CD3 humano o a un polipéptido de CD3 de mono cinomolgo (cino).
4. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 3, en donde (a) el polipéptido de CD3 humano es un polipéptido de CD3 ϵ humano o un polipéptido de CD3 γ humano; o (b) el polipéptido de CD3 de cino es un polipéptido de CD3 ϵ de cino o un polipéptido de CD3 γ de cino.
5. El anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el anticuerpo biespecífico comprende una mutación de sitio de aglucosilación.
6. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 5, en donde la mutación de sitio de aglucosilación (a) es una mutación de sustitución y/o (b) reduce la función efectora del anticuerpo biespecífico.
7. El anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo biespecífico comprende una mutación de sustitución en la región Fc que reduce la función efectora.
8. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 6, parte (a) o la reivindicación 7, en donde la mutación de sustitución se encuentra en el resto de aminoácido N297, L234, L235 y/o D265 (numeración de EU).
9. El anticuerpo biespecífico de la reivindicación 8, en donde la mutación de sustitución se selecciona entre el grupo que consiste en N297G, N297A, L234A, L235A y D265A.
10. El anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el anticuerpo biespecífico es:
 - (i) monoclonal, humanizado o quimérico;
 - (ii) un anticuerpo de longitud completa; y/o
 - (iii) un anticuerpo IgG.
11. El anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el anticuerpo biespecífico comprende dominios constantes de cadena pesada, en donde los dominios constantes de cadena pesada se seleccionan entre un primer dominio CH1 (CH1₁), un primer dominio CH2 (CH2₁), un primer dominio CH3 (CH3₁), un segundo dominio CH1 (CH1₂), un segundo dominio CH2 (CH2₂) y un segundo dominio CH3 (CH3₂) y en donde al menos uno de los dominios constantes de cadena pesada se empareja con otro dominio constante de cadena pesada, en donde:
 - (i) cada uno de los dominios CH3₁ y CH3₂ comprenden una protuberancia o una cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH3₁ pueden situarse en la cavidad o la protuberancia, respectivamente, en el dominio CH3₂; o
 - (ii) cada uno de los dominios CH2₁ y CH2₂ comprenden una protuberancia o una cavidad y en donde la protuberancia o la cavidad en el dominio CH2₁ pueden situarse en la cavidad o la protuberancia, respectivamente, en el dominio CH2₂.
12. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11.
13. Un vector que comprende el ácido nucleico aislado de la reivindicación 12.
14. Una célula hospedadora que comprende el vector de la reivindicación 13.
15. Un método para producir el anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, comprendiendo el método cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 14 en un medio de cultivo y recuperar el anticuerpo biespecífico de la célula hospedadora o del medio de cultivo.
16. Un inmunoconjugado que comprende el anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un agente citotóxico.

17. Una composición que comprende el anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un portador, un excipiente o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

5 18. La composición de la reivindicación 17, en donde la composición comprende además un antagonista de unión al eje de PD-1 o un agente terapéutico adicional.

19. El anticuerpo biespecífico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso en un método de terapia:

10 (i) tratando o retrasando la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite o
(ii) potenciando la función inmunitaria en un sujeto que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario.

15 20. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 19, en donde el trastorno proliferativo celular es un cáncer seleccionado entre el grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón no microcítico, linfoma no Hodgkin (NHL), linfoma de linfocitos B, leucemia de linfocitos B, mieloma múltiple, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, cáncer de ovario, mesotelioma, glioblastoma, DLBCL similar a linfocitos B del centro germinal (GCB), DLBCL similar a linfocitos B activados (ABC),
20 linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de la zona marginal (MZL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma linfoplasmacítico (LL), macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma del sistema nervioso central (CNSL), linfoma de Burkitt (BL), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma esplénico de la zona marginal, tricoleucemia, linfoma/leucemia
25 esplénica, no clasificable, linfoma de linfocitos B pequeños de la pulpa roja difusa esplénica, variante de tricoleucemia, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedades de cadenas pesadas, enfermedad de cadena pesada α , enfermedad de cadena pesada γ , enfermedad de cadena pesada μ , mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma solitario del hueso, plasmacitoma extraóseo, linfoma de la zona marginal extranodal de tejido linfocítico asociado a mucosa (linfoma MALT), linfoma de la zona marginal nodal, linfoma de la zona marginal nodal pediátrico, linfoma folicular pediátrico, linfoma del centro folicular cutáneo primario, linfoma de linfocitos B grandes rico en linfocitos
30 T/histiocitos, DLBCL primario del SNC, DLBCL cutáneo primario, tipo pierna, DLBCL positivo a EBV en ancianos, DLBCL asociado a inflamación crónica, granulomatosis linfomatoide, linfoma de linfocitos B grandes mediastinales (tímicos) primario, linfoma de linfocitos B grandes intravascular, linfoma de linfocitos B grandes positivos a ALK, linfoma plasmablastico, linfoma de linfocitos B grandes que surge en enfermedad de Castleman multicéntrica asociada a HHV8, linfoma de efusión primario: linfoma de linfocitos B, no clasificable, con características intermedias entre el
35 linfoma difuso de linfocitos B grandes y linfoma de Burkitt y linfoma de linfocitos B, no clasificable, con características intermedias entre el linfoma difuso de linfocitos B grandes y el linfoma de Hodgkin clásico.

21. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 19, en donde el trastorno autoinmunitario se selecciona entre el grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico (SLE),
40 enfermedad de Wegener, enteropatía inflamatoria, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), trombocitopenia autoinmunitaria, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Raynaud, síndrome de Sjögren, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía por IgG.

45 22. El anticuerpo biespecífico para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 19-21, en donde el anticuerpo biespecífico se une a (a) una molécula de CD3 situada en una célula efectora inmunitaria y (b) una molécula de CD20 situada en una célula diana distinta de la célula efectora inmunitaria.

50 23. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 22, en donde el anticuerpo biespecífico activa a la célula efectora inmunitaria después de la unión a (a) y (b).

24. El anticuerpo biespecífico para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 19-23, en donde el anticuerpo biespecífico se formula para su administración a un sujeto:

55 (i) en una dosis de 0,01 mg/kg a 10 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg o de 1 mg/kg; o
(ii) en combinación con la administración de un antagonista de unión al eje de PD-1 y/o un agente terapéutico adicional.

60 25. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 24, parte (ii), en donde el antagonista de unión al eje de PD-1 se selecciona entre el grupo que consiste en un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2.

26. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 24, parte (ii), en donde el antagonista de unión al eje de PD-1 es:

65 (i) un antagonista de unión a PD-1 seleccionado entre el grupo que consiste en MDX-1106 (nivolumab), MK-3475

(lambrolizumab) y AMP-224;

(ii) un antagonista de unión a PD-L1 seleccionado entre el grupo que consiste en YW243.55.S70, MPDL3280A, MDX-1105 y MEDI4736; o

5 (iii) un antagonista de unión a PD-L2, en donde el antagonista de unión a PD-L2 es un anticuerpo o una inmunoadhesina.

27. El anticuerpo biespecífico para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 19-26, en donde el anticuerpo biespecífico está formulado para su administración en combinación con la administración de rituximab, obinutuzumab o un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC).

10 28. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 27, en donde el anticuerpo biespecífico está formulado para su administración en combinación con un ADC.

15 29. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 28, en donde el ADC es un ADC anti-CD79.

30. El anticuerpo biespecífico para el uso de la reivindicación 29, en donde el ADC anti-CD79b es polatuzumab vedotina.

20 31. El anticuerpo biespecífico para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 19-30, en donde el anticuerpo biespecífico está formulado para su administración a un sujeto por vía subcutánea, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía tópica, por vía oral, por vía transdérmica, por vía intraperitoneal, por vía intraorbital, mediante implante, mediante inhalación, por vía intratecal, por vía intraventricular o por vía intranasal.

25 32. El anticuerpo biespecífico para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 19-31, en donde el sujeto es un ser humano.

33. Un kit que comprende:

(a) la composición de las reivindicaciones 17 o 18; y

30 (b) un prospecto que comprende instrucciones para administrar la composición a un sujeto para tratar o retrasar el progreso de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario.

Figura 1

QDGN EEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDDKNIGSDEHLSLKEFSELEQSGYYVVCYPRG
SKPEDANFYLYLRARVDDGSADDAKKDAKKDDAKKDDAKKDGSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKD
GKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGM YCKGSKNKSPLQVYYRM (SEQ ID NO: 282)

Figura 2A

Clon	ELISA		FACS			Activación de linfocitos T	
	Hu-CD3 ϵ / γ muFc	Cino-CD3 ϵ / γ muFc	Jurkat	PBMC humanas	PBMC de cino	Activación de linfocitos T	Isotipo
13A3	+	+	+	+	+	débil	IgG2b/k
19B1	+	+	+	+	+	débil	IgG2b/k
72H6	+	+	+	+	+	débil	IgG2a/k
30A1	+	+	+	+	+	débil	IgG1/k
41D9	+	+	+	+	+	débil	IgG1/ λ
71H7	+	+	+	+	+	débil	IgG1/ λ

Figura 2B

mu IgG	KD de hCD3eg comercial
30A1	0,4 nM
41D9	1,4 nM
13A3	0,6 nM
19B1	0,7 nM
72H6	2,5 nM

Figura 3A

Clon	ELISA		FACS			Activación de linfocitos T	
	Péptido 1-27 de Hu-CD3e	Péptido 1-27 de CD3e de cino	Jurkat	PBMC humanas	PBMC de cino	Activación de linfocitos T	Isotipo
39B7	+	+	+	+	+	+	IgG2b/k
27H5	+	+	+	+	+	+	IgG2b/k
38E4	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
127B3	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
79B7	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
95A2	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
40D2	+	+	+	+	+	+	IgG2b/k
118G9	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
18F2	+	+	+	+	+	+	IgG2a/k
43H8	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
32B8	+	+	+	+	+	+	IgG3/k
40G5	+	+	+	+	+	+	IgG2a/k
21B2	+	+	+	+	+	débil	IgG3/k
24H11	+	+	+	+	+	+	IgG2b/k
125A1	+	+	+	+	+	débil	IgG3/k
21A9	+	+	+	+	+	+	
Rab17	+	+	+	+	+	+	IgG1 de conejo

Figura 3B

IgG	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
127B3	1,30E+05	9,67E-05	7,44E-10
14C7	1,66E+05	3,79E-05	2,28E-10
40D2	1,97E+05	1,11E-04	5,63E-10
79B7	1,52E+05	3,41E-05	2,24E-10
40G5	1,56E+05	2,48E-05	1,59E-10
18F12	1,34E+05	1,59E-05	1,19E-10
38E4	4,41E+05	3,45E-05	7,83E-11
95A2	2,90E+05	1,87E-05	6,44E-11
43H8	2,66E+05	1,23E-04	4,61E-10
118G9	1,79E+05	3,74E-05	2,09E-10
27H5-1	2,34E+05	1,15E-04	4,92E-10
39B7	2,20E+05	7,31E-05	3,31E-10
muSP34	1,61E+05	4,00E-05	2,49E-10

Figure 3C

IgG	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
mu38E4	5,60E+04	5,32E-05	0,95
mu40G5	3,11E+04	2,69E-05	0,86
Rab17	2,86E+04	2,42E-04	8,46

Figura 4B

13A3	DIVLTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWAS TRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 227)
19B1	GIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWA STRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 243)
72H6	EIVLSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWAS TRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYTLRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 241)
30A1	NIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWA STRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYLLTFTGAGTKLELK (SEQ ID NO: 231)
41D9a	QAVVTQESALTTSPGGTVILTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPDHLFTGLIGGTSNRAPG VPVRFSGSLIGDKAALTITGAQTEDDAMYFCALWYSTHFVFGGGTKVTV (SEQ ID NO: 221)
71H7	QAVVTQESALTTSPGGTVILTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPDHLFTGLIGGTSNRAPG VPVRFSGSLIGDKAALTITGAQTEDDAMYFCALWYSTHFVFGGGTKVTV (SEQ ID NO: 245)

Figura 4C

13A3	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTSYIHWMKQRPQGQGLEWIGWIYPGNVNT KYNEKFKGKATLTADNSSSTANMQLSSLTSEDSAVYFCARNHDYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 226)
19B1	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTSYIHWMKQRPQGQGLEWIGWIYPGNVNT KYNEKFKGKATLTADNSSSTANMQLSSLTSEDSAVYFCARNHDYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 242)
72H6	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYIHWVKQRPQGQGLEWIGWIFPGSDNT KYNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARNGNYAMDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 240)
30A1	QVQLKESGPGGLVAPSQLSITCTVSGFSLTNYAIIHWVRQPPGKGLDWLGVIWAGGNTK YNSALMSRLSFSKDNSKSQVFLEINSLQTDDTAMYYCAREDSGGYVALDYWGQGTSTV VSS (SEQ ID NO: 230)
41D9a	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWWVKQAPGKGLKWMGWINTNTGK PTYAEFFKGRFVFSLETSASTTYLQINNKNEDTATYFCARRGDYRYAWFLYWGGQGTTLV VSA (SEQ ID NO: 220)
71H7	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWWVKQAPGKGLKWMGWINTNTGK PTYAEDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCARRGDYRYAWFTYWGGQGTTLV VSA (SEQ ID NO: 244)

Figura 5A

14C7	DVMTQTPSSLAVSTGEKVTMTCKSSQSLNIRTRKNCLAWYQQKPGQSPKLLIFWASTRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTIRSVQPEDLAV YYCTQSYTLRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 247)
127B3	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQTEDLAV YYCCQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 249)
18F12	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMTCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAV YYCKQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 251)
27H5-1	DIVMTQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAV YYCTQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 253)
38E4	DIVMTQSPSFLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQRPQSPKLLIYWSTSTRKSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAI YYCKQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 286)
39B7	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMTCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAV YYCKQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 255)
40D2	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIFWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAV YYCKQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 257)
40G5	DIVLTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLTWYQQKPGQSPKLLIYWASTRDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEEDLAV YYCTQSYTLRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 292)
79B7	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQTEDLAV YYCCQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 259)
95A2	DIVMTQSPSSLAVSAGEMVTLHCKSSQSLNIRTRKNYLAWYQKPGQSPRLLIYWASTRASGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQPEDLAV YYCTQSFILRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 261)
118G9	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKPGKLSPLKLLIYWASTRESGVPERFTGSGSGTDFTLTISSVQTEDLAV YYCTQSFILRTFGGTRLEIK (SEQ ID NO: 263)

Figura 5B

14C7	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGFSFTNYYIHWKQRPQGQGLEWIGWIYPGSDNTKFNDKFKGKATLTADTSSTTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARDISITNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 246)
127B3	QVQLQQSGSELVRPGASLKLSCKASGYTFTSYWMHWVRQRPQGQGLEWIGNFYPGDLTVNYDEKFNKVTLAVDTSSSTAFLQLSSL TSEDSAVYYCTRDAYSRYFFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 248)
18F12	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTNYYMHVWKQRPQGQGLEWIGWISPGSGSIKYNEKFKGKATLTADTSSTTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARDGYSLYFFDFWGGTTLTVSS (SEQ ID NO: 250)
27H5-1	QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKTSGYSFINYYTHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGNGNIKYNEKFMGKATLTADTSSTTAHMHLSL VSEDSAVYYCARDISGYSYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 252)
38E4	QVQLQQSGPELVKPGASVTISCTASGFTFTSYIHWVRQRPQGQGLEWIGWIYPENDNTKYNEKFKDKATLTADTSSTTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARDGYSRYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 285)
39B7	QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKTSGYNFINYYTHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGNGNIKYNEKFMGKATLTADTSSTTAHMHLSL VSEDSAVYYCARDISGYSYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 254)
40D2	QVQLQQSGPELVKPGASLKLSCKASGYSFANYTHWVRQRPQGQGLEWIGWLYPGNGDTRYNEKFKDKATLTADTSNTASMQLNSL TSEDSAVYYCTRDSYGNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 256)
40G5	QVQLQQSGPELVKPGTSVKMSCKASGYTFTNYYIHWVRQRPQGQGLEWIGWIYPGDVSTKYNEKFKGKTTLTADKSSSTAYMLLSGL TSEDSAIYFCARDGYSFYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 291)
79B7	QVQLQQSGSELVRPGASLKLSCKASGYTFTSYWMHWVRQRPQGQGLEWIGNSYPGDLNVNYDEKFNKVTLAVDTSSSTAFLQLSSL TSEDSAVYYCTRDAYSRYFFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 258)
95A2	QVQLQQSGPEMVKPGASVTISCKTSGFTFTSYIHWMMQRPQGQGLEWIGWLYPGDVSTRYNEKFRDKATLTADKSSTTAYLYLSSL TSEDSAVYFCARDSSASYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 260)
118G9	QVQLQQPGSELVRPGASVTLSCASGYSFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWVGNIYPGGEIINYAEKFKTKGTLTVDISSSTAYMHLSSL TSDDSAVYYCTRDITGNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 262)

Figura 6A

21A9 DIQMTQSPSSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLVWYQQKLGQPPKLLIYRASTR
ESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSQLAEDVAVYYCQQYYSPVWTFGGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 235)

Rab17 DMTQTPSSKSPVGDVTINCQASETVYSNNYLAWFQQKPGQPPKRLIYGVSTLDSGVP
PRFSGSGGTQFTLTISDVVCDDAATYACAGYKTSSSYAIAFGGGTELEIL
(SEQ ID NO: 265)

Figura 6B

21A9 EVQLVESGGGVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWVRQASEKGLEWVGRIRSRANSYA
TAYAAASVKDRFTISRDN SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCIRD TMVRGIDYWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 234)

Rab 17 QSVKESEGGFLFKPTDTLTCTVSGCSLSSCAISWVRQAPGKLEWIGFMSVTGSAYYAN
WAKSRSTITRNTNENTVTLKMTRLTAADTAIFYFCARVGIGSGLNIWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 264)

Figura 7

Cadena ligera

Numeración de Kabat

Seq ID	Kabat – HVR L1	Kabat – HVR L2	Kabat – HVR L3
SEQ ID NO: 247 14C7	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 249 127B3	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 251 18F12	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 253 27H5-1	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 256 38E4	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 255 39B7	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 257 40D2	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 292 40G5	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 259 79B7	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 261 88A2	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		
SEQ ID NO: 263 118G9	DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK		

40G5c (secuencia consenso) DI VMTQSPSSLA VSGEKKVTMSCKSSQSLNSTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYMASTRSGVPRFTGSG..SGTDFTLTISVQAEDILAVYCTQSFILRTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 187

Cadena pesada

Numeración de Kabat

Seq ID	Kabat – HVR H1	Kabat – HVR H2	Kabat – HVR H3
SEQ ID NO: 246 14C7	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 248 127B3	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 250 18F12	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 252 27H5-1	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 255 38E4	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 254 39B7	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 256 40D2	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 291 40G5	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 258 79B7	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 260 95A2	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		
SEQ ID NO: 262 118G9	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS		

40G5c (secuencia consenso) EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTFTNYTHHWKQRPQGGLWIGWYPGDGNTKFNQKFGKATLTADTSSSTAYMQLSLLTSEDSAVVYCARDSTNYFYFDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 186

Figura 8A

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo de ratón alineado con K4H1

Número de Kabat	HVR L1																																				SEQ ID NO: 227						
	24	25	26	27	a	b	c	d	e	f	28	29	30	31	32	33	34	35	36																								
	K	S	S	Q	S	V	L	Y	S	S	N	N	K	N	Y	L	A	W	Y																								
	K	S	S	Q	S	L	L	N	S	R	T	R	K	N	Y	L	A	W	Y																								
K4H1	D	I	V	M	T	Q	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	I	K	S	S	Q	S	V	L	Y	S	N	N	K	N	Y	L	A	W	Y	
13A3 (xCD3)	D	I	V	L	T	Q	S	P	S	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	I	K	S	S	Q	S	L	L	N	S	R	T	R	K	N	Y	L	A	W	Y
hu13A3 (xCD3)	D	I	V	M	T	Q	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	I	K	S	S	Q	S	L	L	N	S	R	T	R	K	N	Y	L	A	W	Y

Número de Kabat	HVR L2																																				SEQ ID NO: 228
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71															
	I	Y	W	A	S	T	R	E	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F													
	I	Y	W	A	S	T	R	E	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F													
K4H1	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	T	R	E	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F		
13A3 (xCD3)	Q	Q	K	P	G	Q	S	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	T	R	E	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F		
hu13A3 (xCD3)	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	T	R	E	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F		

Número de Kabat	HVR L3																																				SEQ ID NO: 229
	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107																			
	Q	Q	Y	Y	S	T	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K																		
	Q	Q	Y	Y	S	T	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K																		
K4H1	T	L	T	I	S	S	L	Q	A	E	D	V	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	T	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	
13A3 (xCD3)	T	L	T	I	S	S	L	Q	A	E	D	V	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	T	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	
hu13A3 (xCD3)	T	L	T	I	S	S	L	Q	A	E	D	V	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	T	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	

SEQ ID NO: 227
SEQ ID NO: 223

Cadena pesada: anticuerpo de ratón alineado con K4H1

Número de Kabat	HVR H1																																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	G
	13A3 (xCD3)	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q
hu13A3 (xCD3)	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	G

Número de Kabat	HVR H2																																											
	45	46	47	48	49	50	51	52	a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	a	b	c	83	84
	L	E	W	I	G	W	I	N	P	G	S	G	N	T	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	R	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S	L	R	S	
	13A3 (xCD3)	L	E	W	I	G	W	I	N	P	G	S	G	N	T	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	R	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S	L	R	S
hu13A3 (xCD3)	L	E	W	I	G	W	I	N	P	G	S	G	N	T	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	R	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S	L	R	S	

Número de Kabat	HVR H3																																											
	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113															
	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S																				
	13A3 (xCD3)	E	D	S	A	V	Y	Y	C	A	R	N	H	D	Y	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S															
hu13A3 (xCD3)	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	N	H	D	Y	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S																

SEQ ID NO: 226

SEQ ID NO: 222

SEQ ID NO: 226
SEQ ID NO: 222

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo de ratón alineado con K4H4

[illegible]

Figura 8C

Cadena ligera, Lambda: Anticuerpo de ratón alineado con las líneas germinales humanas

Número de Kabat IGLV7-46*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	a	b	c	28	29	30	31	32	33	34	35	36
	Q	A	V	V	T	Q	E	P	S	L	T	V	S	P	G	G	T	V	T	L	T	C	G	S	S	T	G	A	V	T	S	G	H	Y	P	Y	W	F
	Q	A	V	V	T	Q	E	S	A	L	T	T	S	P	G	G	T	V	T	L	T	C	P	S	S	T	G	A	V	T	T	S	N	Y	A	N	W	F
	Q	A	V	V	T	Q	E	P	S	L	T	V	S	P	G	G	T	V	T	L	T	C	P	S	S	T	G	A	V	T	T	S	N	Y	A	N	W	F

Número de Kabat IGLV7-46*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	
	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	T	L	I	Y	D	T	S	N	K	H	S	W	T	P	A	R	F	S	G	S	L	L	G	G	K	A	
	Q	E	K	P	D	H	L	F	T	G	L	I	G	G	T	S	N	R	A	P	G	V	P	A	R	F	S	G	S	L	L	I	G	D	K	A
	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	T	L	I	Y	G	T	S	N	R	A	P	W	T	P	A	R	F	S	G	S	L	L	L	G	G	K	A

Número de Kabat IGLV7-46*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	a	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
	A	L	T	L	S	G	A	Q	P	E	D	E	A	E	Y	Y	C	L	S	Y	S	G	A	R	Y	V	F	F	G	T	G	T	K	V	T	V	L
	A	L	T	I	I	G	A	Q	T	E	D	E	A	M	Y	F	C	A	L	W	S	T	H	F	V	F	F	G	G	T	K	V	T	V	L	IGLJ1	
	A	L	T	L	S	G	A	Q	P	E	D	E	A	E	Y	F	C	A	L	W	S	T	H	F	V	F	F	G	T	G	T	K	V	T	V	L	

Cadena pesada: Anticuerpo de ratón alineado con las líneas germinales humanas

Número de Kabat IGHV7-4-1*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	HVRH1									
	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	S	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	A	M	N	W	V	R	Q	A	P	G	Q	G	
	Q	I	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	E	T	V	K	I	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	N	W	V	K	Q	A	P	G	Q	G	
	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	S	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	N	W	V	R	Q	A	P	G	Q	G	

Número de Kabat IGHV7-4-1*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	45	46	47	48	49	50	51	52	a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	a	b	c	83	84
	L	E	W	M	G	W	I	N	T	N	T	G	N	P	T	Y	A	Q	G	F	T	G	R	F	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L	Q	I	C	S	L	K	A
	L	E	W	M	G	W	I	N	T	N	T	G	K	P	T	Y	A	E	E	F	F	K	G	R	F	V	F	S	L	E	T	S	A	S	T	Y	L	Q	I	N	L	K	A	
	L	E	W	M	G	W	I	N	T	N	T	G	K	P	T	Y	A	E	E	F	F	K	G	R	F	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L	Q	I	C	S	L	K

Número de Kabat IGHV7-4-1*01 41D9a (xCD3) hu41D9a (xCD3)	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	A	B	HVRH3													C	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	IGHD4 SEQ ID NO: 220 SEQ ID NO: 218
	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	I	G	H	D	4																		
	E	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	R	G	D	Y	R	Y	A	W	F	L	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	A	SEQ ID NO: 220													
	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	R	G	D	Y	R	Y	A	W	F	L	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 218														

Figura 8D

Cadena ligera, Lambda: Anticuerpo de ratón alineado con las líneas germinales humanas

Número de Kabat IGLV7-46*01 muSP34 humuSP34	1 2 3 4 5 6 7 8 9 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 a b c 28 29 30 31 32 33 34 35 36	Q A V V T Q E E P S L T V S P G G T V T L T C G S S T G A V . . . T S G H Y P Y W F Q A V V T Q E E S A L T T S P G E T V T L T C R S S T G A V . . . T T S N Y A N W F E A V V T Q E E P S L T V S P G G T V T L T C R S S T G A V . . . T T S N Y A N W F
Número de Kabat IGLV7-46*01 muSP34 humuSP34	37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71	Q Q K P G Q A P R T L I Y D T S N K . . . H S W T P A R F S G S L . . . L G G K A Q E K P D H L F T G L I G G T N K R . . . A P G V P A R F S G S L . . . L G G K A Q Q K P G Q A P R T L I Y G T N K R . . . A P W T P A R F S G S L . . . L G G K A
Número de Kabat IGLV7-46*01 muSP34 humuSP34	72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 a 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107	A L T L S G A Q P E D E A E Y Y C L L S Y S G A R . . . V V F G G G T K L T V L IGLJ2/3*01 A L T I T G A Q T E D E A T Y F C A L W Y S N L . . . W V F G G G T K L T V L SEQ ID NO: 217 A L T L S G A Q P E D E A E Y Y C A L W Y S N L . . . W V F G G G T K L T V L SEQ ID NO: 642
Número de Kabat Consensus H3 muSP34 humuSP34	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44	E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S . . . W V R Q A P G K G E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F N T Y A M N . . . W V R Q A P G K G E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F N T Y A M N . . . W V R Q A P G K G
Número de Kabat Consensus H3 muSP34 humuSP34	45 46 47 48 49 50 51 52 a b c 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 a b c 83 84	L E W V G A I T S . . S G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A L E W V A R I P S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D R F T I S R D S Q S T L Y L Q M N L K T L E W V G R I P S K Y N N Y A T Y Y A D S V K D R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A
Número de Kabat Consensus H3 muSP34 humuSP34	85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 A B C D E 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113	E D T A V Y Y C A R F D Y W G Q G T L V T V S S IGHJ4 E D T A V Y Y C V R H G N F G N S Y V S W F A Y W G Q G T L V T V S S SEQ ID NO: 216 E D T A V Y Y C V R H G N F G N S Y V S W F A Y W G Q G T L V T V S S SEQ ID NO: 641

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con K4H1

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con K4H1

[illegible]

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con K4H1

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con K4H1

Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 a b c d e f 28 29 30 31 32 33 34 35 36	D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A W Y D I V M T Q S P S S L A V S A G E K V T M S C K S S Q S L L N S R T F K N Y L T W Y D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K S S Q S L L N S R T F K N Y L T W Y	HRV L1
Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54	Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R . . . E S G V P D R F S G S G S G T D F Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R . . . D S G V P D R F S G S G S G T D F Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R . . . D S G V P D R F S G S G S G S G T D F	HRV L2
Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95	T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T P . . . F T F G Q G T K V E I K T L T I S S V Q A E D L A V Y Y C T Q S Y T L . . . R T F G G T K L E I K T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C T Q S Y T L . . . R T F G Q G T K V E I K	HRV L3
Cadena pesada: anticuerpo de ratón alineado con K4H1	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y Y I H . . . W V R Q A P G Q G E V Q L Q Q S G P E L V K P G T S V K M S C K A S G Y T F T N Y Y I H . . . W V R Q R P G Q G E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T N Y Y I H . . . W V R Q A P G Q G	HRV H1
Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	45 46 47 48 49 50 51 52 a 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65	L E W I G W I N P . . G S G N T N Y A Q K F Q G R V T I T R D T S T S T A Y L E L S L R S L E W I G W I Y P . . G D V S T K Y N E K F K G K T T L T A D K S S S T A Y M L L S G L T S L E W I G W I Y P . . G D V S T K Y N E K F K G R V T I T R D T S T S T A Y L E L S L R S	HRV H2
Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 A	E D T A V Y Y C A R . . . F D Y W G Q G T L V T V S S E D S A I Y F C A R D G Y S F Y Y . . . F D Y W G Q G T T L T V S S E D T A V Y Y C A R D G Y S F Y Y . . . F D Y W G Q G T L V T V S S	HRV H3
Número de Kabat K4H1 40G5 (xCD3e) hu40G5 (xCD3e)	95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113	E D T A V Y Y C A R . . . F D Y W G Q G T L V T V S S E D S A I Y F C A R D G Y S F Y Y . . . F D Y W G Q G T T L T V S S E D T A V Y Y C A R D G Y S F Y Y . . . F D Y W G Q G T L V T V S S	HRV H4

Figura 9A

13A3 murino = 0,7 nM

Variantes de 13A3 humanizadas:

<u>Cadena pesada</u>	<u>Injerto de K4</u>	<u>Injerto de K4 + S43A</u>
Injerto de VH1	1,5 nM	1,8 nM
Injerto de VH1 + R71A	1,0 nM	1,4 nM
Injerto de VH1 + V37M + V67A + R71A + T73N	0,8 nM	ND
Injerto de VH1 + V37M + V67A + R71A + T73N + Y91F	1,2 nM	1,4 nM

Figura 9B

30A1 murino = 0,4 nM

Variantes de 30A1 humanizadas:

<u>Cadena pesada</u>	<u>Injerto de K4</u>	<u>Injerto de K4 + S43A</u>
Injerto de VH3	2,9nM	1,4 nM
Injerto de VH3 + A24V	1,7 nM	1,7 nM
Injerto de VH3 + R71K + L78V	1,8 nM	2,2 nM
Injerto de VH3 + A24V + R71K + L78V	2,3 nM	1,5 nM
Injerto de VH3 + A24V + V48L + F67L + I69F + R71K + L78V	2,4 nM	1,4 nM
Injerto de VH4 + V71K + F78V	15,4 nM	5,7 nM
Injerto de VH4 + I37V + I48L + V67L + I69F + V71K + F78V	2,4 nM	1,7 nM

Figura 9C

41D9 murino = 1,1 nM

Variantes de 41D9 humanizadas:

Cadena pesada

Injerto de VH7 + V2I + A78T + Y91F

Injerto de $\lambda 7$ + F36V + Q38E + A43L + P44F
+ T46G + Y49G + G69D + Y87F

ND

Figura 9D

SP34 murino = 7 nM

Variantes de SP34 humanizadas:

Cadena ligera

Injerto de VH3 Injerto de VH3 Injerto de VH3 Injerto de VH3

Injerto de λ7	+ Y49G	+T93V	+G49A +T93V	+N73D + T93V	G49A + N73D + T93V
Injerto de λ7 + F36V	+ T46G + Y49G	15,9 nM		3,5 nM	14,5 nM
Injerto de λ7 + F36V + Q38E + A43L + P44F + T46G + Y49G + T58V + Y87F			21 nM	3,1 nM	8 nM
Injerto de λ2	+ Y49G		sin unión		
Injerto de λ2 + A43L + P44F + L46G + M47L + Y49G			unión débil	13 nM	47 nM

Figura 9E

38E4 murino = 0,75 nM

Variantes de 38E4 humanizadas:

Cadena pesada

Injerto de VH1 + R71A

Injerto de K4 + P43S

0,5 nM

Figura 9F

Las CDR de 40G5c murino procedían de la secuencia consenso

Variantes de 40G5c humanizadas:

<u>Cadena pesada</u>	<u>Injerto de K4</u>
Injerto de VH1 + V67A + R71A	37 nM
Injerto de VH1 + I69L + R71A	36 nM
Injerto de VH1 + V67A + I69 + R71A	24 nM

Figura 10

Variantes	hCD3 ϵ ¹⁻²⁷ -Fc (nM)	huCD3 $\epsilon\gamma$ (nM)	cyCD3 $\epsilon\gamma$ (nM)	hCD3 $\epsilon\gamma$ comercial
hu13A3.v2				1
hu30A1.v2				2
hu41D9a				ND
huSP34.v52	11	19	12	4
hu38E4.v1	1,0	0,5	0,7	
hu40G5c	13	12	14	

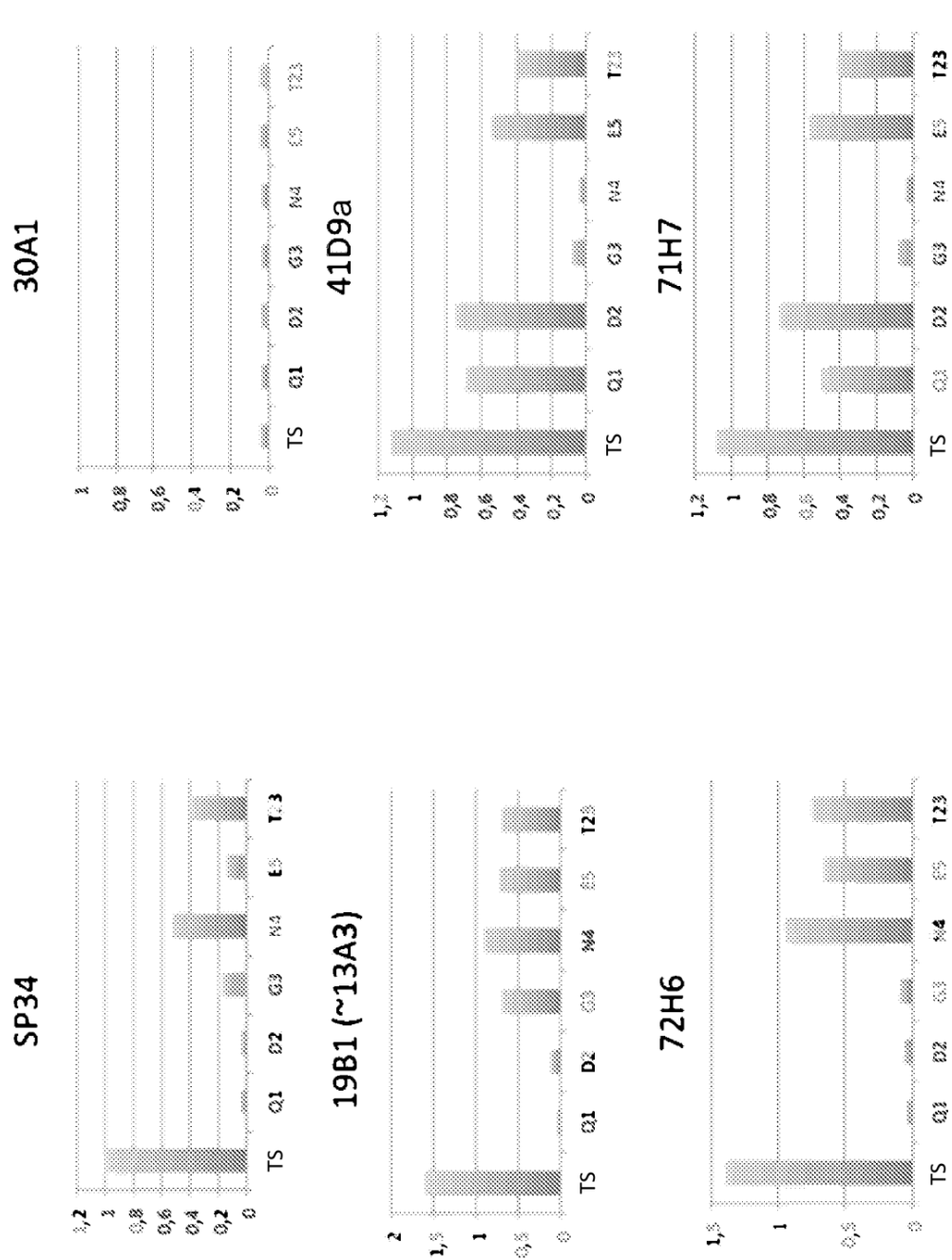
Figura 11

	Versión	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
38E4	v1	6,06E+06	0,0051	0,8
38E4	v2	2,29E+06	0,0036	1,6
38E4	v3	4,11E+06	0,0140	3,4
38E4	v4	3,25E+05	0,0034	10
40G5	c	1,20E+06	0,01764	15
38E4	v5	2,05E+06	0,0225	11
38E4	v6	5,11E+04	0,0017	34
38E4	v7	2,83E+05	0,0246	87
38E4	v8	1,12E+06	0,2018	180
38E4	v9	7,26E+04	0,0166	229

Figura 12A

Mutantes de L3	Cinética de un solo ciclo				Cinética de ciclo completo			
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	relación (múltiplo)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	relación (múltiplo)
K89A	4,28E+05	1,02E-03	2,4	0,7				
Q90A					1,78E+05	4,22E-03	23,8	29,9
S91A	3,44E+05	1,35E-03	3,9	1,2				
F92A					1,46E+06	2,32E-02	15,9	20,0
I93A					3,08E+06	1,24E-02	4,0	5,1
L94A	2,83E+05	2,95E-04	1,0	0,3				
R96A			NB	NB				
T97A	2,96E+05	8,60E-04	2,9	0,9				
Mutantes de H3								
R94A	5,55E+04	4,35E-03	78,4	23,3	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	relación (múltiplo)
D95A	1,27E+05	3,09E-03	24,3	7,2				
D95T					51140	0,001749	34,2	43,0
D95S					1,12E+06	0,2018	179,5	225,8
G96A					1,86E+06	3,57E-03	1,9	2,4
Y97A			NB					
S98A	3,85E+05	1,47E-03	3,8	1,1				
R99A			NB					
Y100A					4,60E+04	1,91E-02	414,5	521,4
Y100aA					2,83E+05	2,46E-02	87,0	109,5
F100bA			NB					
D101A	1,42E+05	3,42E-03	24,1	7,2				
Y102A	3,22E+05	1,32E-03	4,1	1,2				
hu38E4.v1	3,20E+05	1,08E-03	3,4	1,0				
hu38E4.v1					5,44E+06	4,33E-03	0,8	1,0

Figura 13A



Unión de anticuerpo a péptido: cada IgG a 3 nM. Anticuerpo secundario anti-IgG de ratón-HRP, DO a 450 nm

Figura 13B

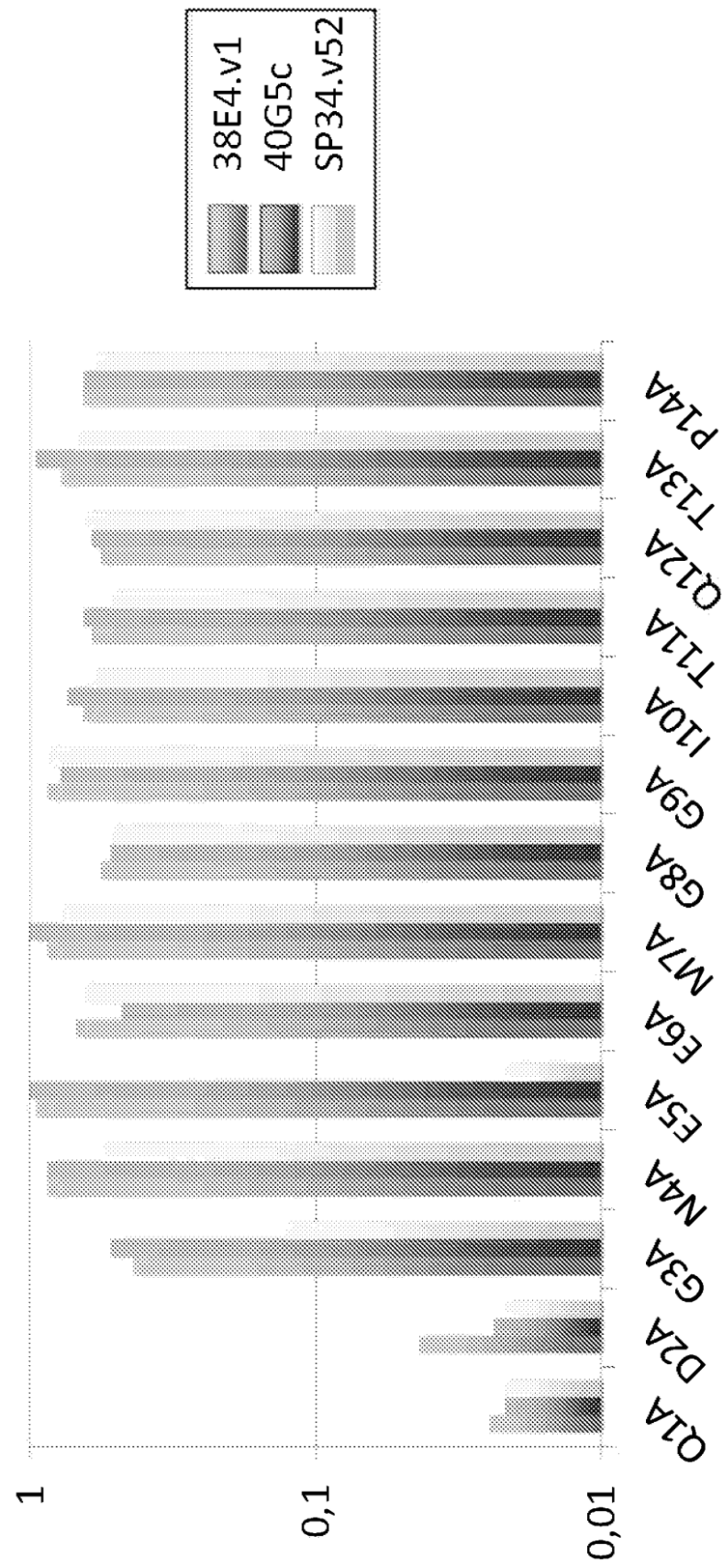


Figura 13C

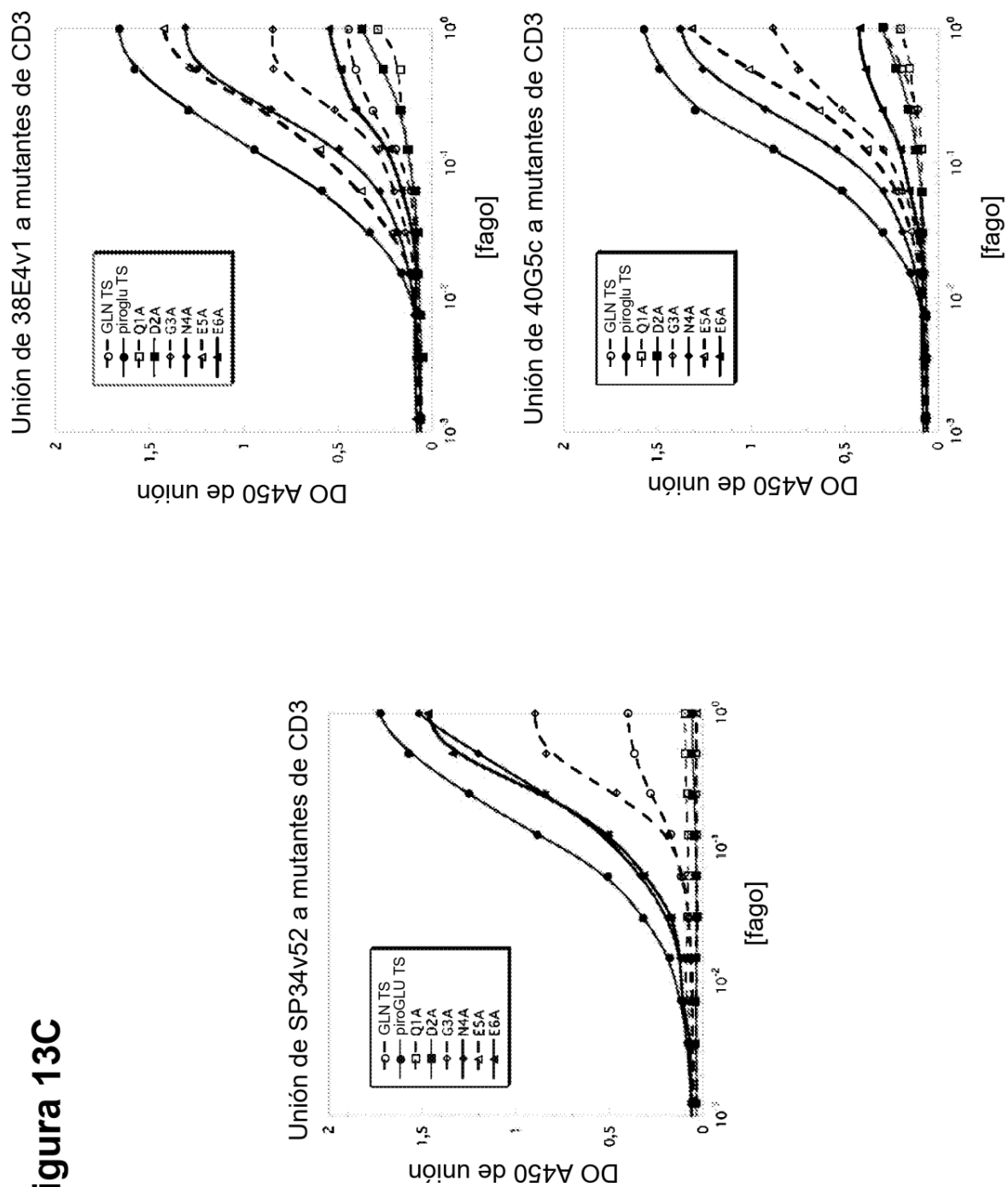


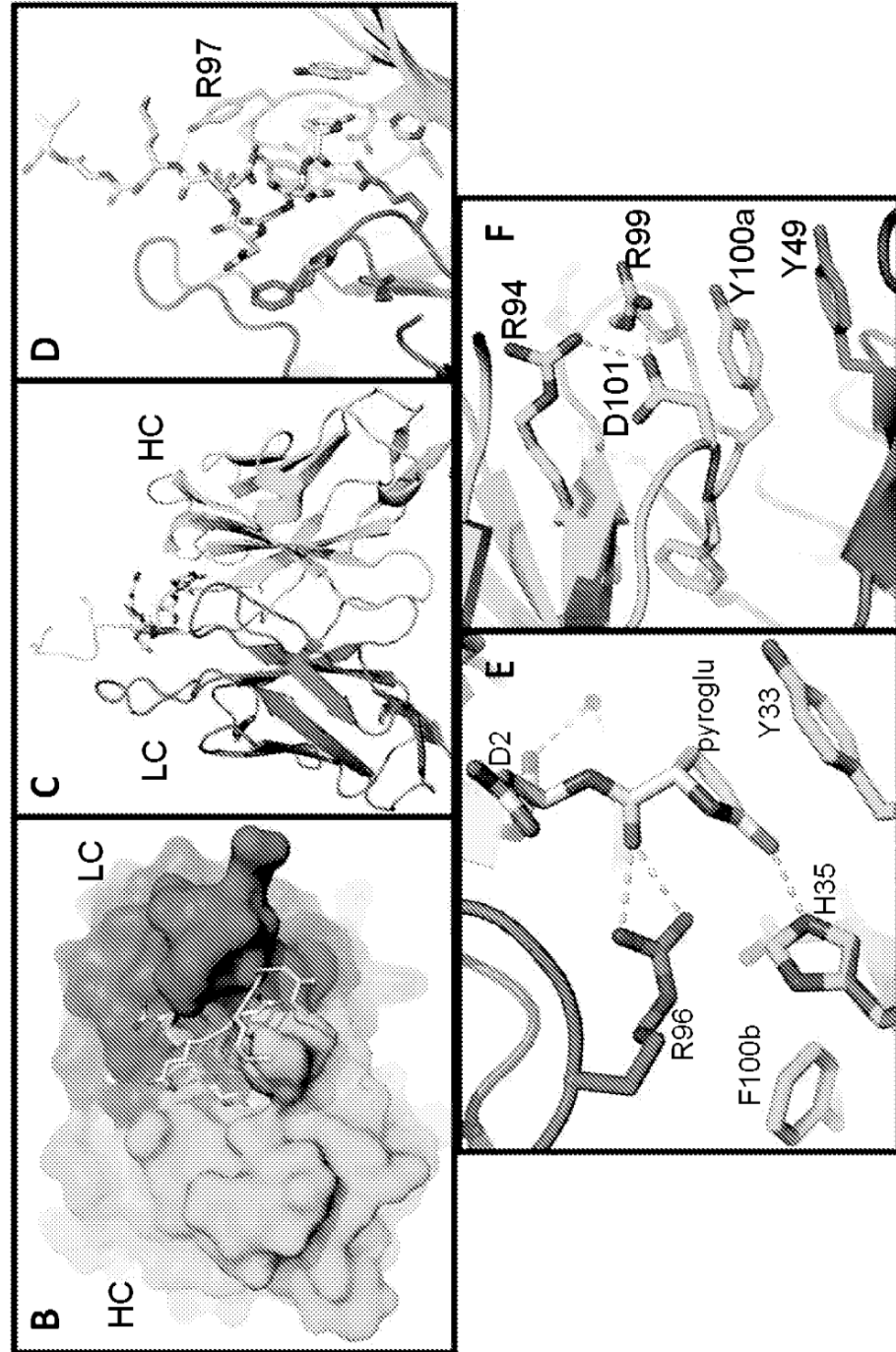
Figura 13D

KD (nM) de afinidad de SP34v52	
TS	12
Q1A	NB
D2A	NB
G3A	172
N4A	20
E5A	19000
E6A	17
M7A	17
G8A	27
G9A	25

KD (nM) de afinidad de 38E4v1	
TS	3
Q1A	1000
D2A	1500
G3A	7
N4A	3
E5A	7
E6A	65
M7A	13
G8A	8
G9A	6

Figuras 14A-14F

A Secuencia de péptido 16-mero: piroGlu-S-G-N-E-E-M-G-G-I-T-Q-T-P-Y-K



Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con xCD3e(hu40G5c)

Δ Posiciones de Vernier; Foote y Winter JMB (1992) 224:487
* Interacciones FW-CDR; Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169
⊗ Interacciones VH-VL; Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

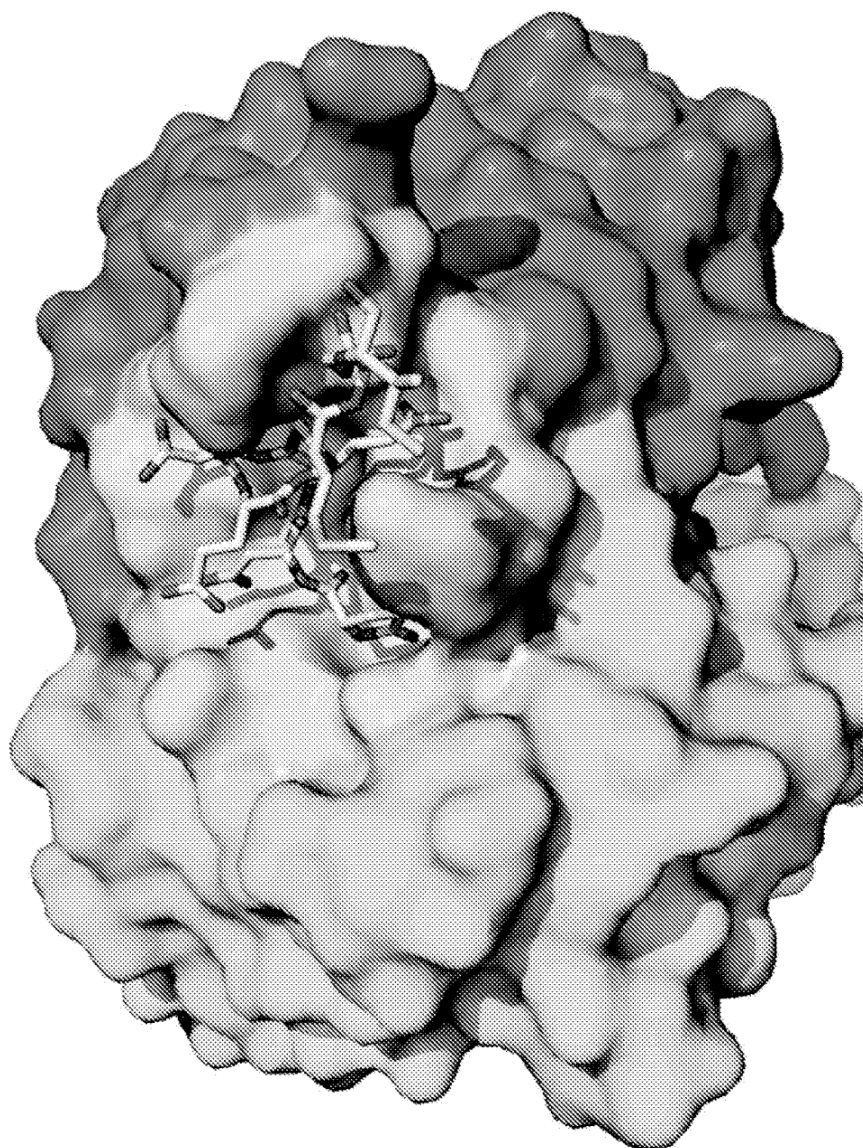
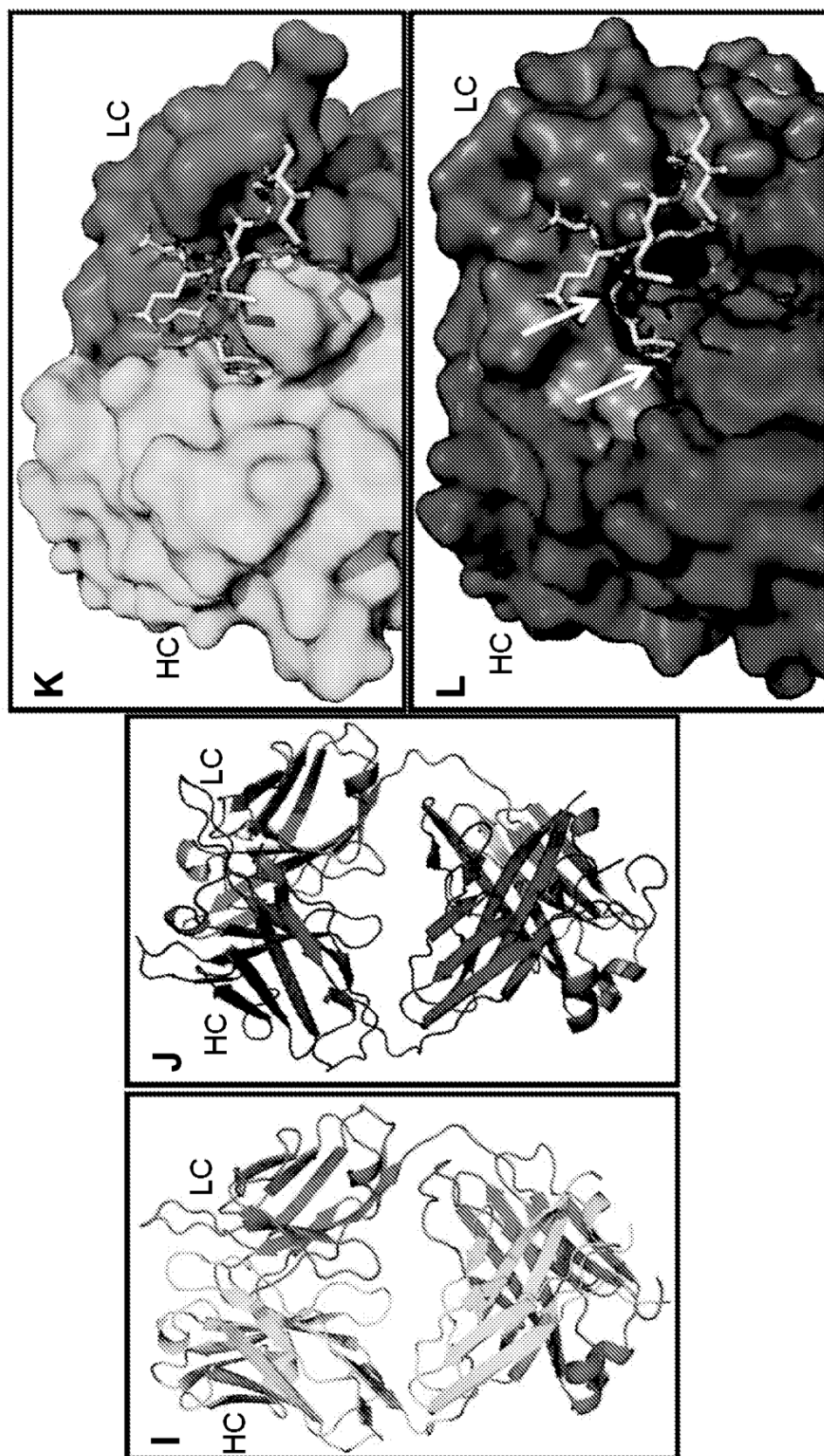
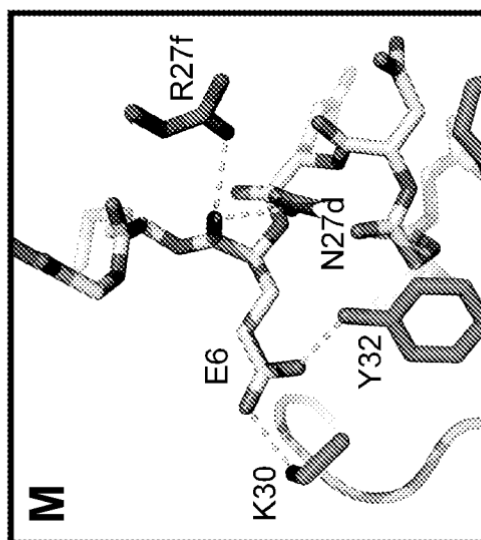
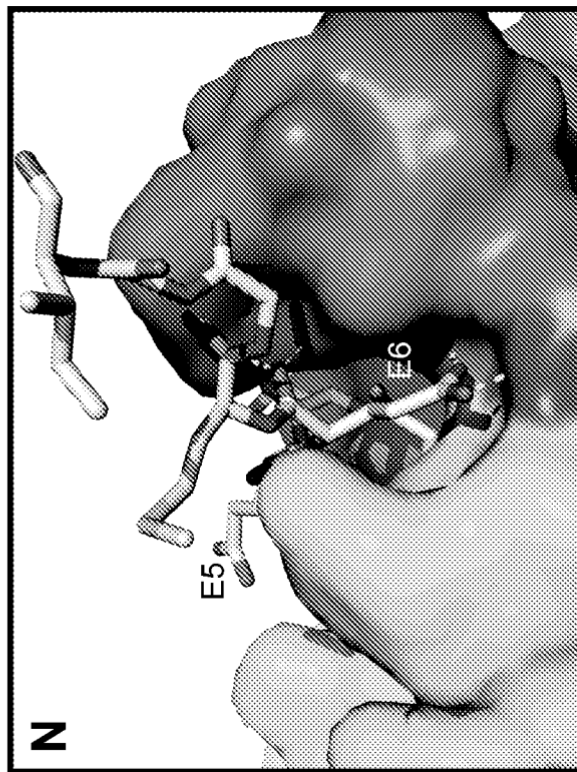


Figura 14H

Figuras 14I-14L





Figuras 14M-14N

Figura 15

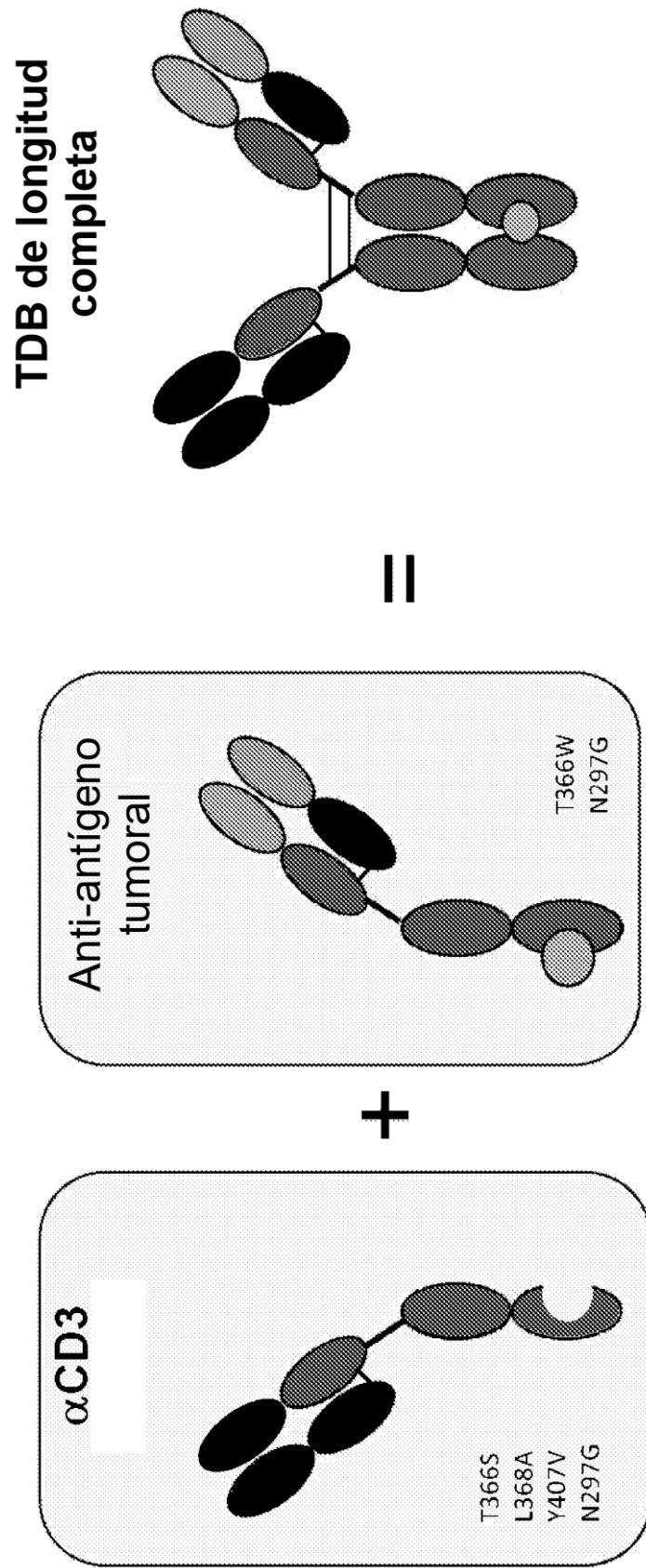


Figura 16

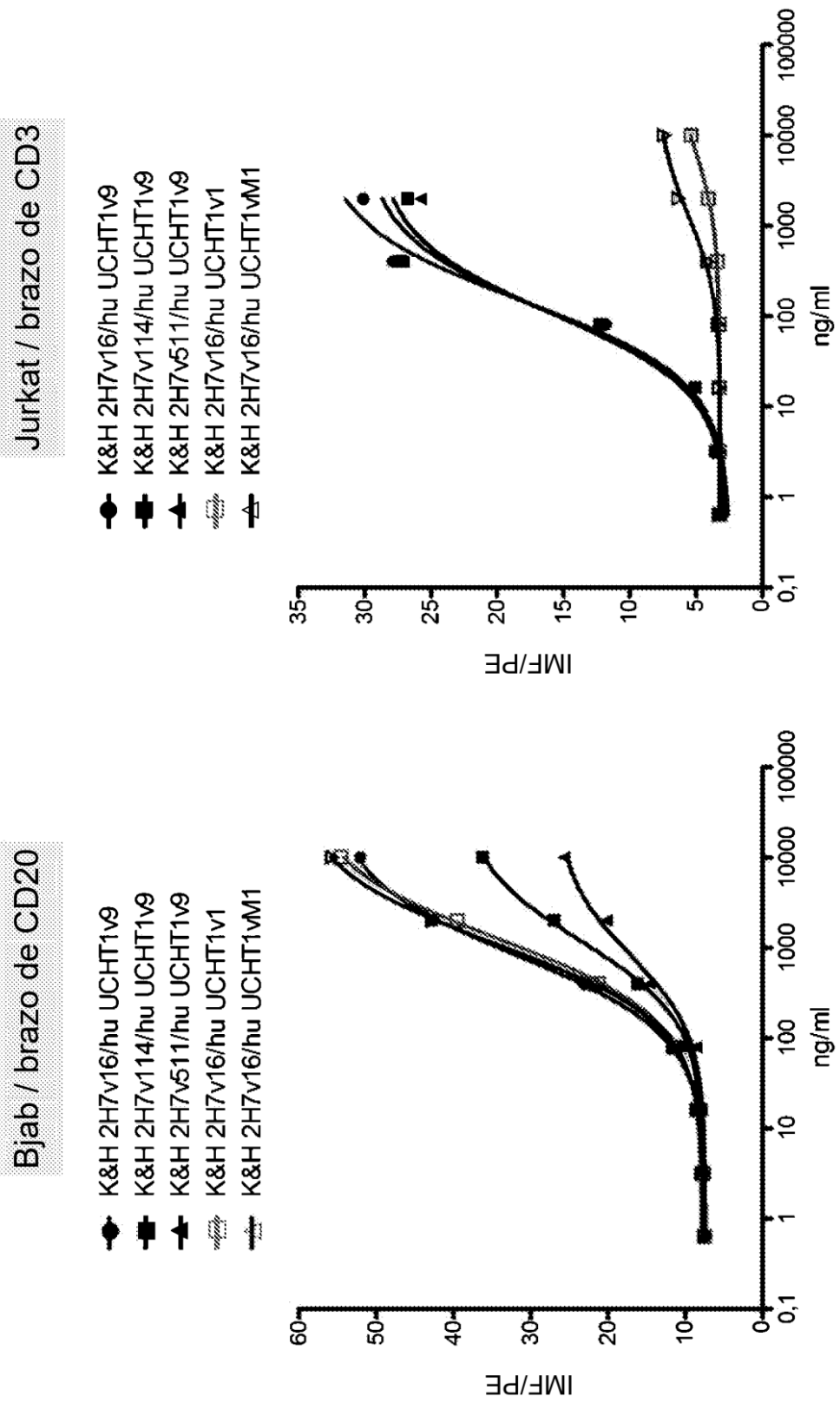


Figura 17

Afinidad de unión monovalente

Anticuerpo	anti-CD20/2H7			anti-CD3/UCHT1		
clon	v16	v114	v511	v9	vM1	v1
Kd (nM) *	54	44	53	4,2	318	NA

*Kd de unión monovalente medida mediante Scatchard

Afinidad de unión bivalente

Anticuerpo	anti-CD20/2H7 con UCHT1v9			anti-CD3/UCHT1 con 2H7v16		
clon	v16	v114	v511	v1	vM1	v9
Kd (nM) *	46	4,5	2,3	300	40	3

*Kd de unión monovalente medida mediante Scatchard

Figura 18

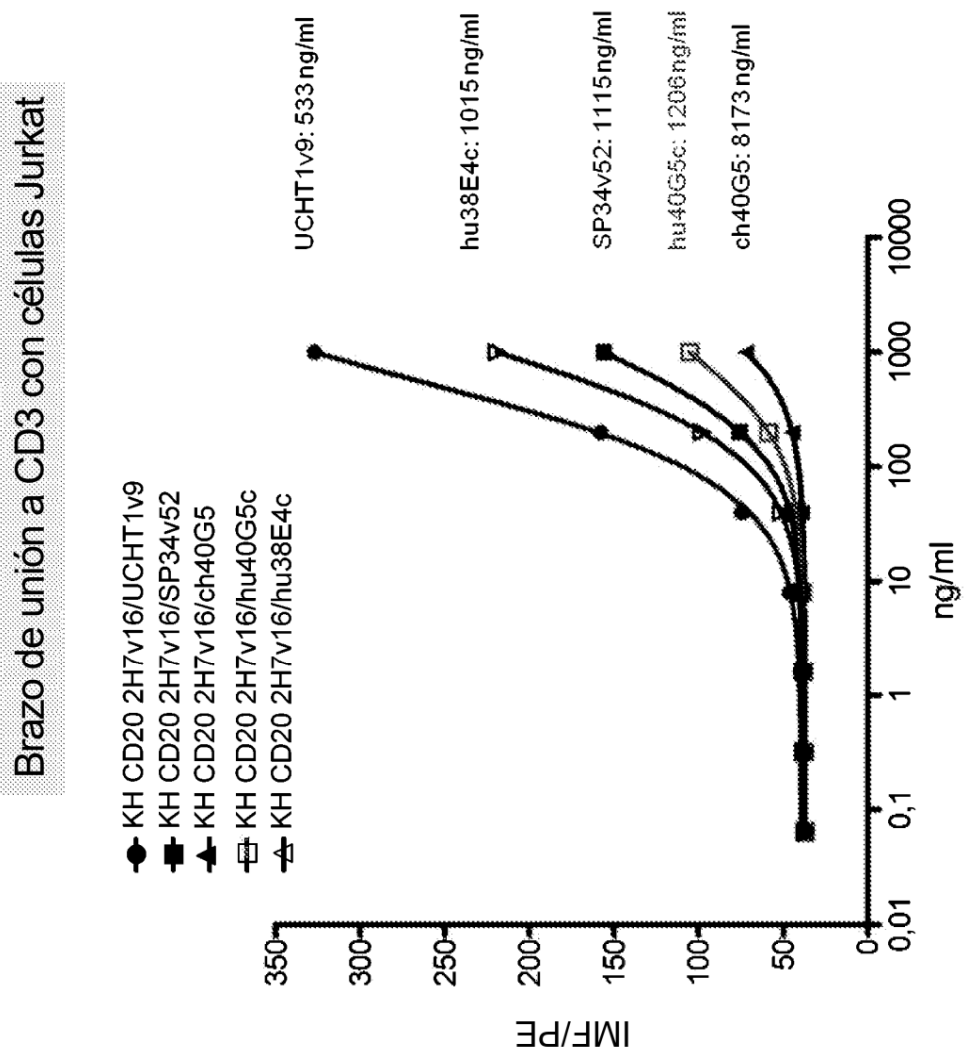


Figura 19

Brazo de unión a CD3 con células Jurkat

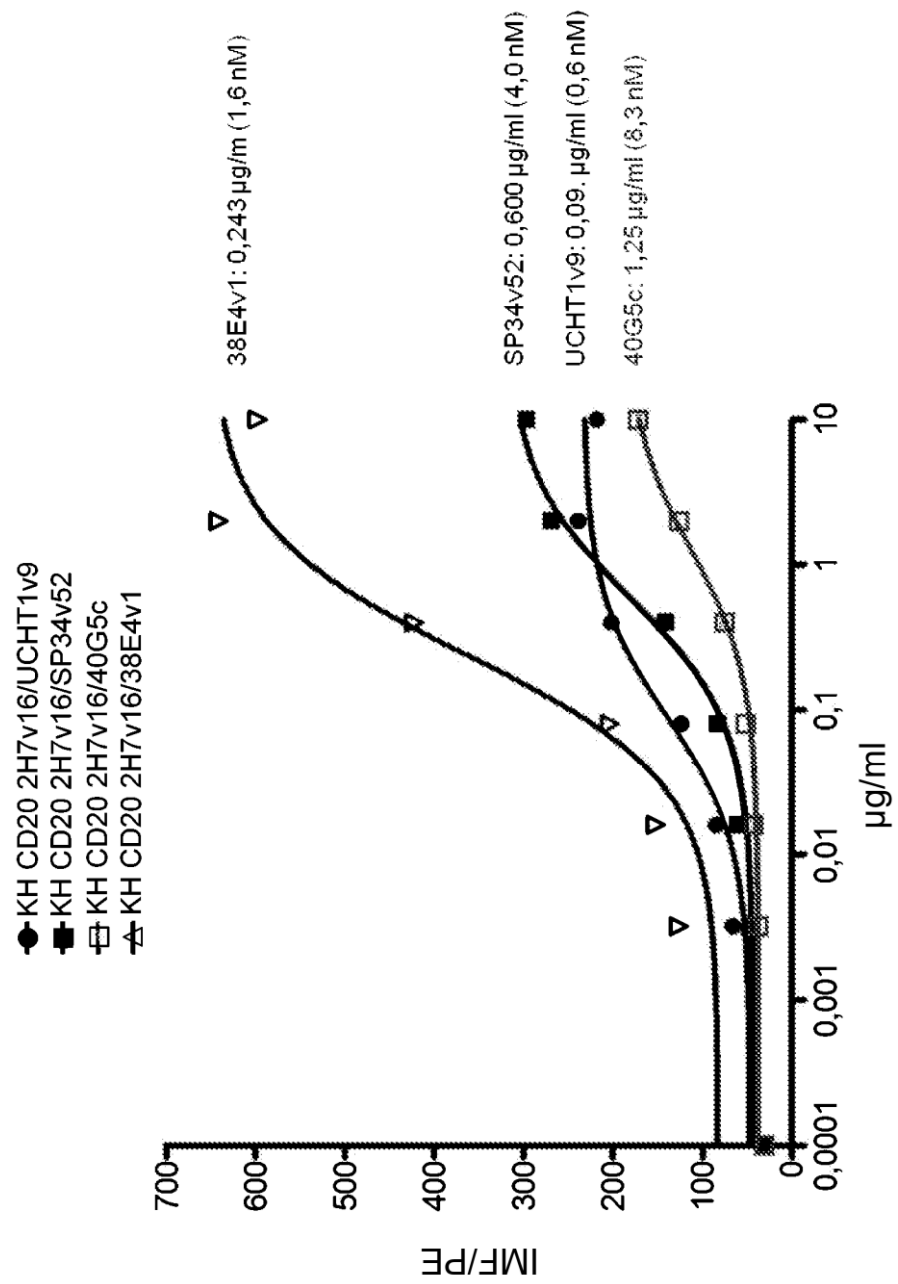
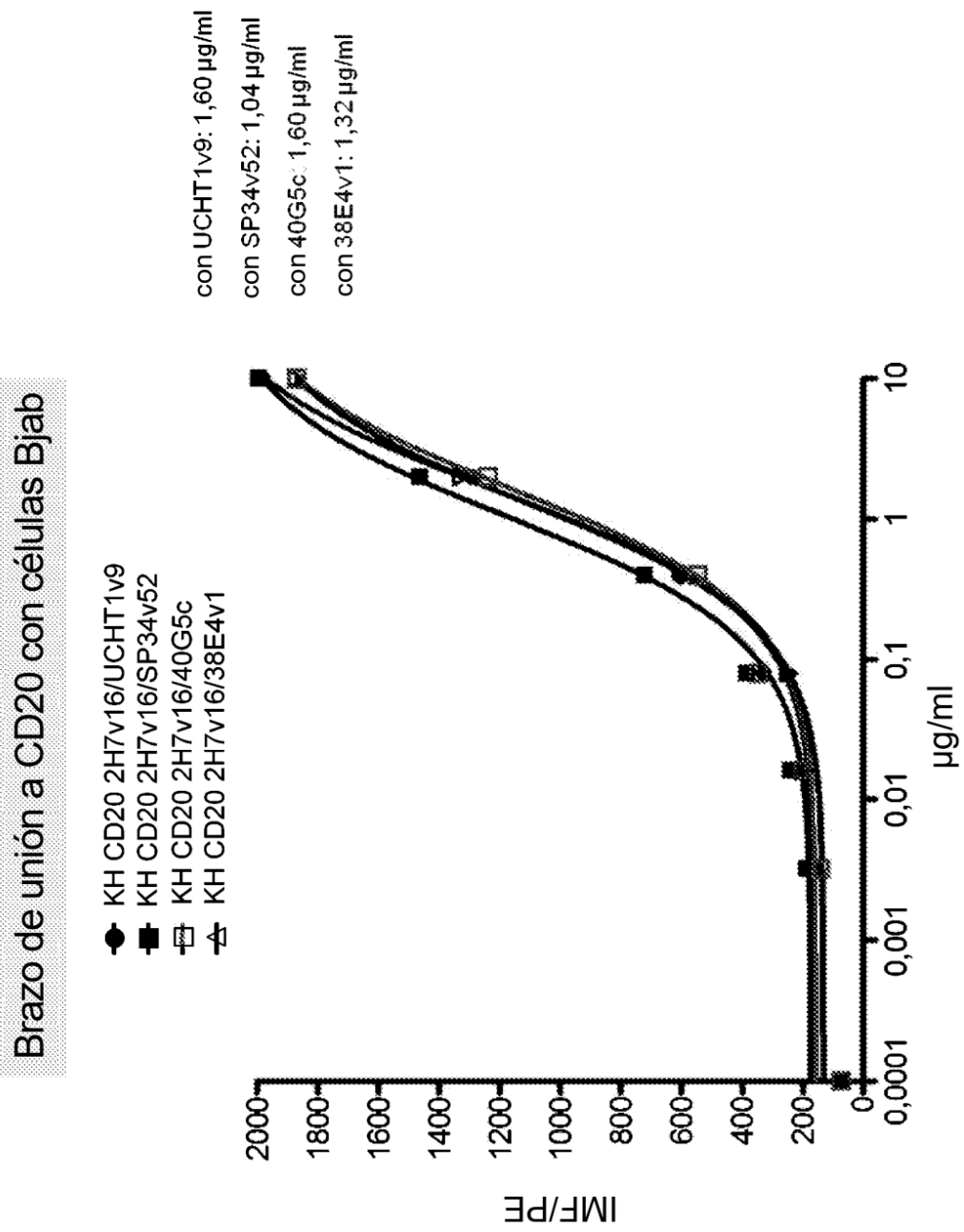
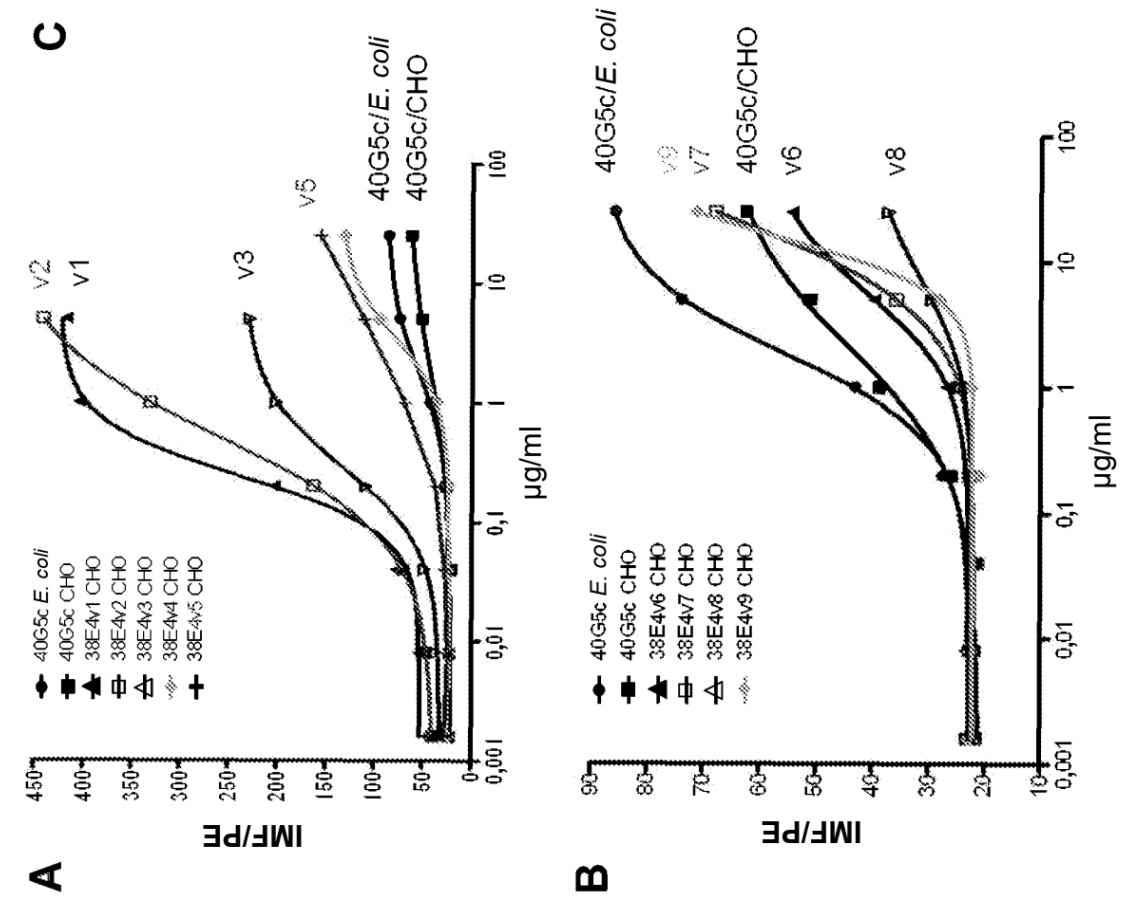


Figura 20



Figuras 21A-21C



Brazo de CD3	Fuente	CE50 / µg/ml
40G5c	<i>E. coli</i>	1,85 (~12nM)
40G5c	CHO	2,01 (~13nM)
38E4v1	CHO	0,24 (~1,6nM)
v2	CHO	0,52 (~3,4nM)
v3	CHO	0,29 (~1,9nM)
v4	CHO	3,51 (~23nM)
v5	CHO	4,11 (~27nM)
v6	CHO	5,56 (~36nM)
v7	CHO	22,6 (~147nM)
v8	CHO	7,23 (~47nM)
v9	CHO	15,0 (~97nM)

* Variante de N297G para todos los materiales de CHO

Figuras 22A-22B

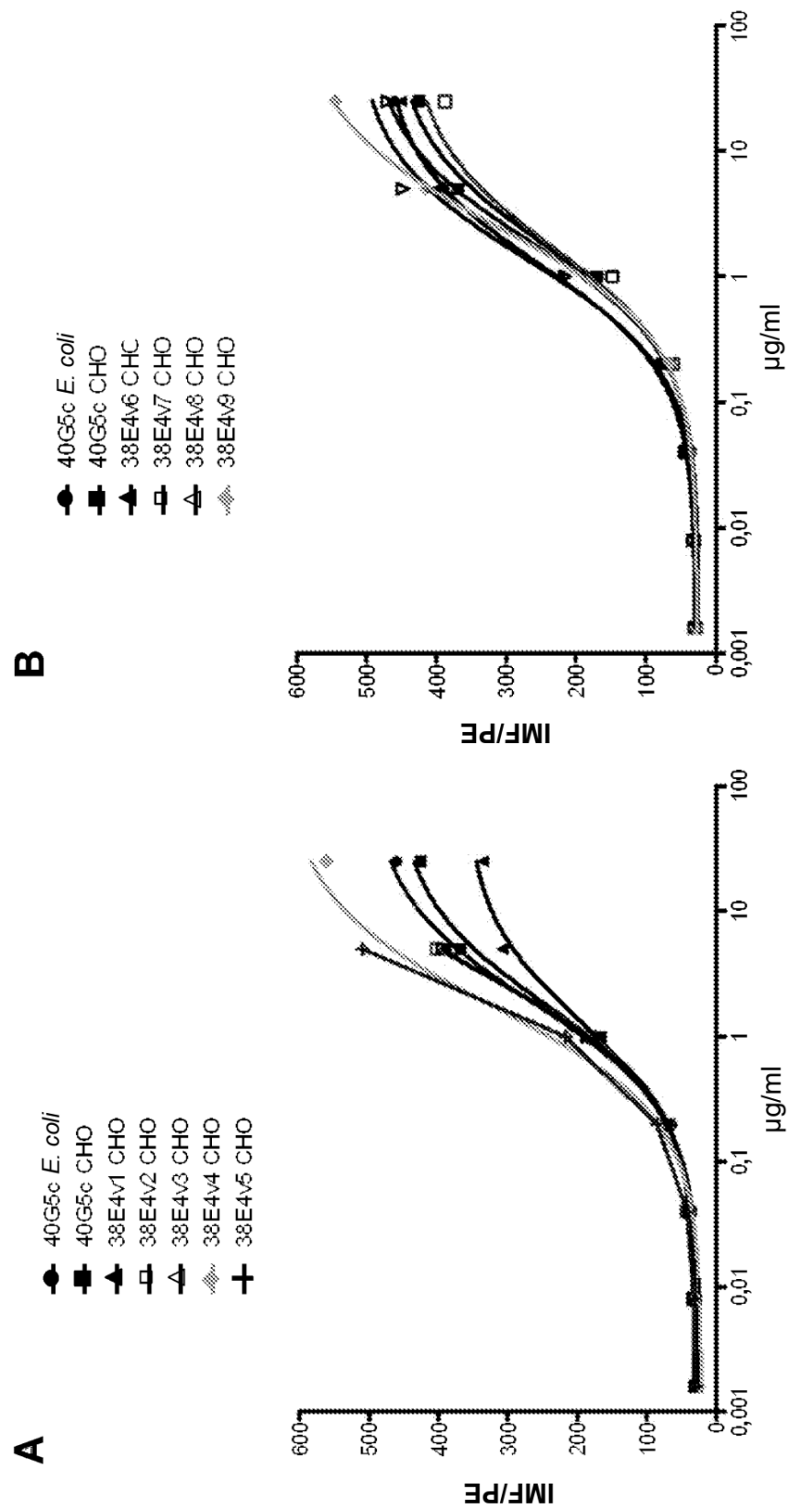


Figura 23

Brazo de unión a CD3 con células Jurkat

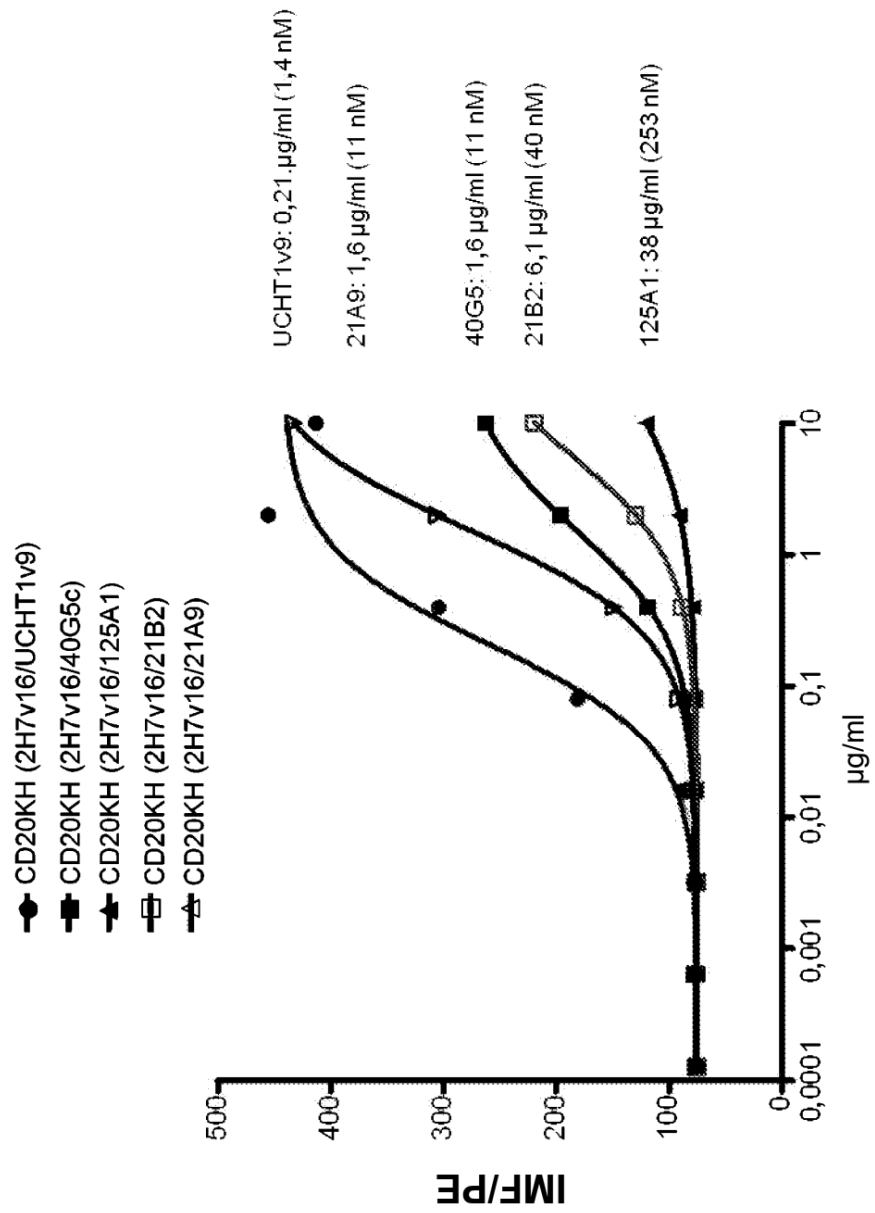
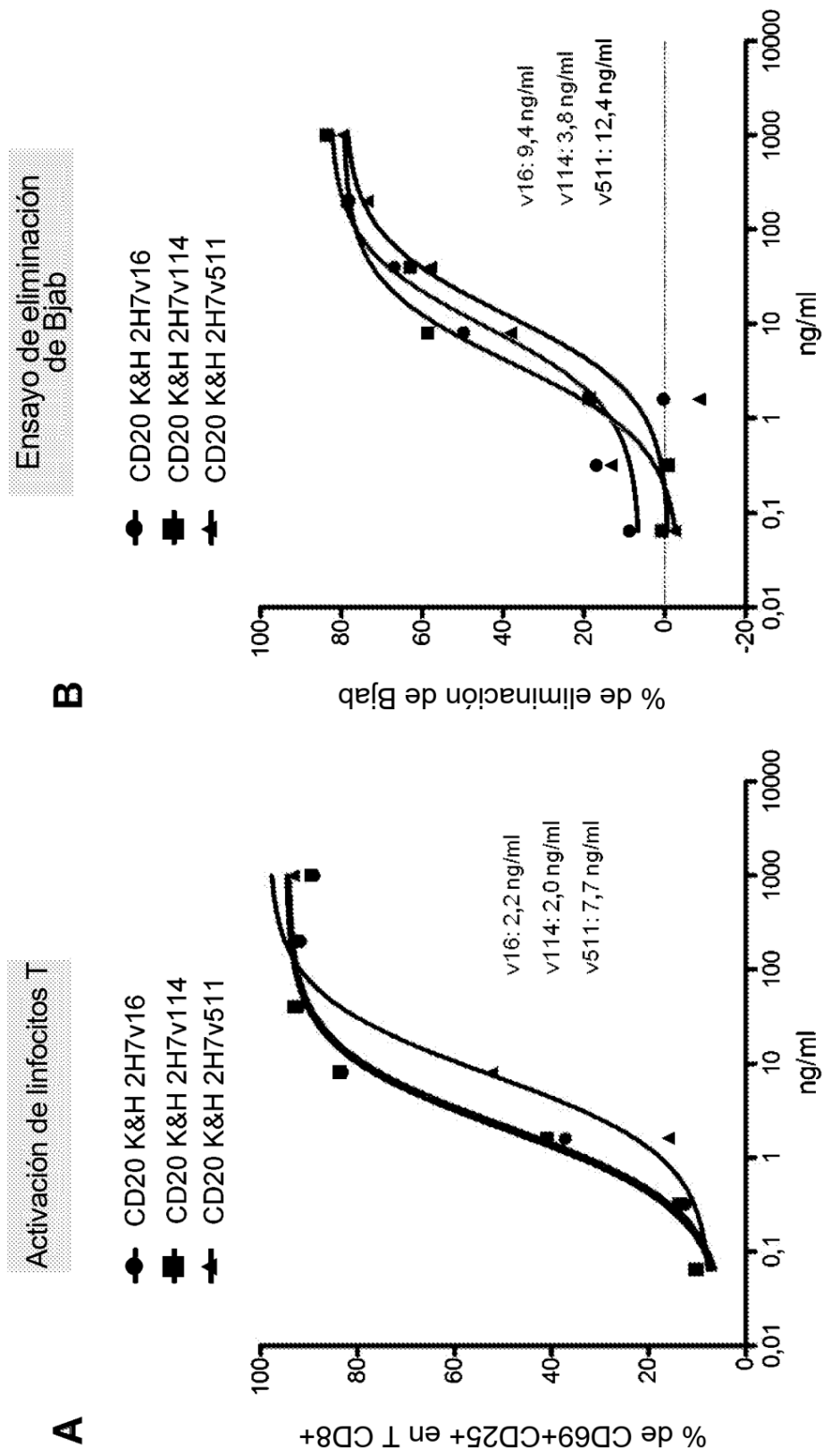


Figura 24

Nombre de muestra	TDB			Fab		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
40G5c (<i>E. coli</i>)	3,58E+05	0,0256	7,15E-08	4,01E+05	0,02533	63,2
40G5c (CHO)	5,97E+05	0,03069	5,15E-08			
sp34.v52	6,09E+05	0,00535	8,78E-09			
38E4v1	4,03E+06	0,00515	1,28E-09	6,06E+06	0,005074	0,8
38E4v2	2,11E+06	0,00513	2,43E-09	2,29E+06	0,003586	1,6
38E4v3	4,98E+06	0,01599	3,21E-09	4,11E+06	0,014	3,4
38E4v4	7,21E+05	0,0984	1,37E-07	3,25E+05	0,003361	10,3
38E4v5	3,22E+06	0,05154	1,60E-08	2,05E+06	0,02246	11,0
38E4v6	2,34E+04	0,8784	3,76E-05	51140	0,001749	34,2
38E4v7	1,14E+06	0,2897	2,54E-07	2,83E+05	0,02464	87,0
38E4v8	1,13E+04	0,04426	3,93E-06	1,12E+06	0,2018	179,5
38E4v9	1,59E+04	1,018	6,42E-05	72610	0,0166	228,6

Figuras 25A-25B

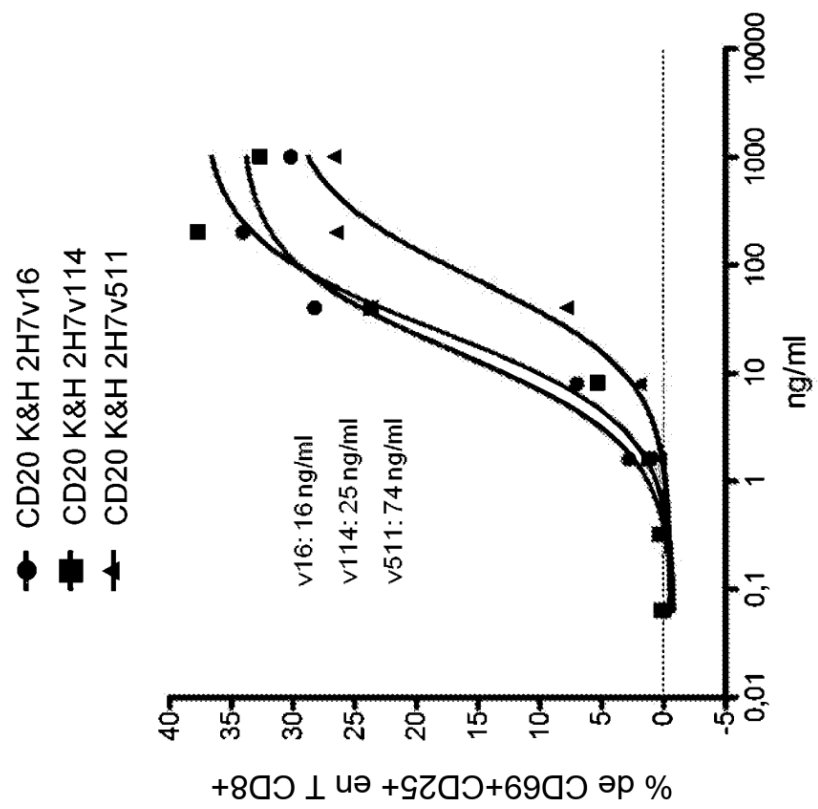


20.000 Bjab con linfocitos T CD8+ humanos purificados 5x, dilución de anticuerpo 1:5 a partir de 1000 ng/ml, 24 horas.

Figuras 26A-26B

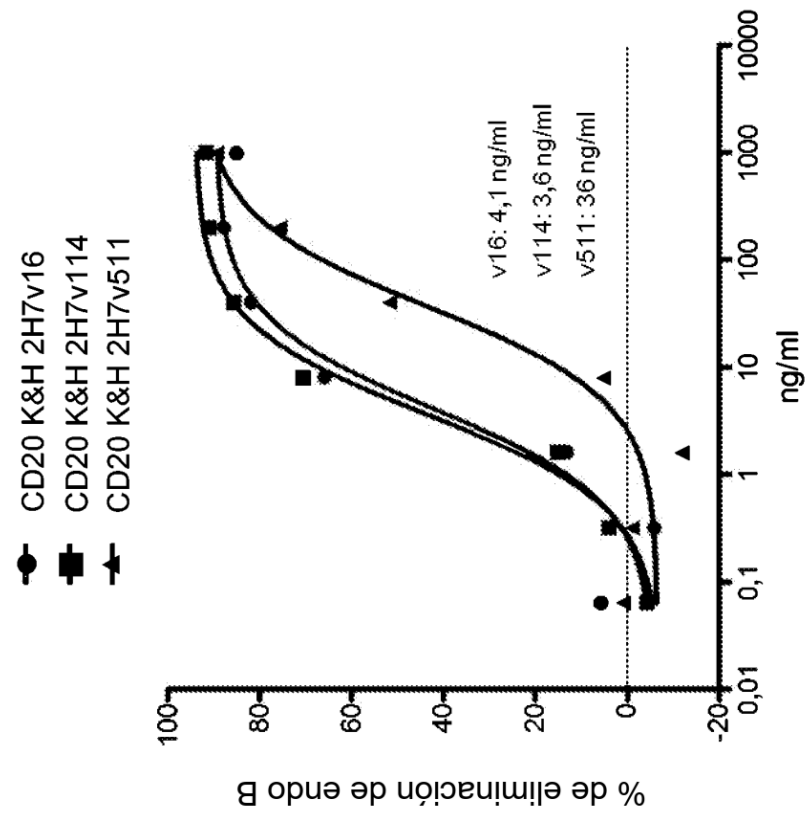
A

Activación de linfocitos T

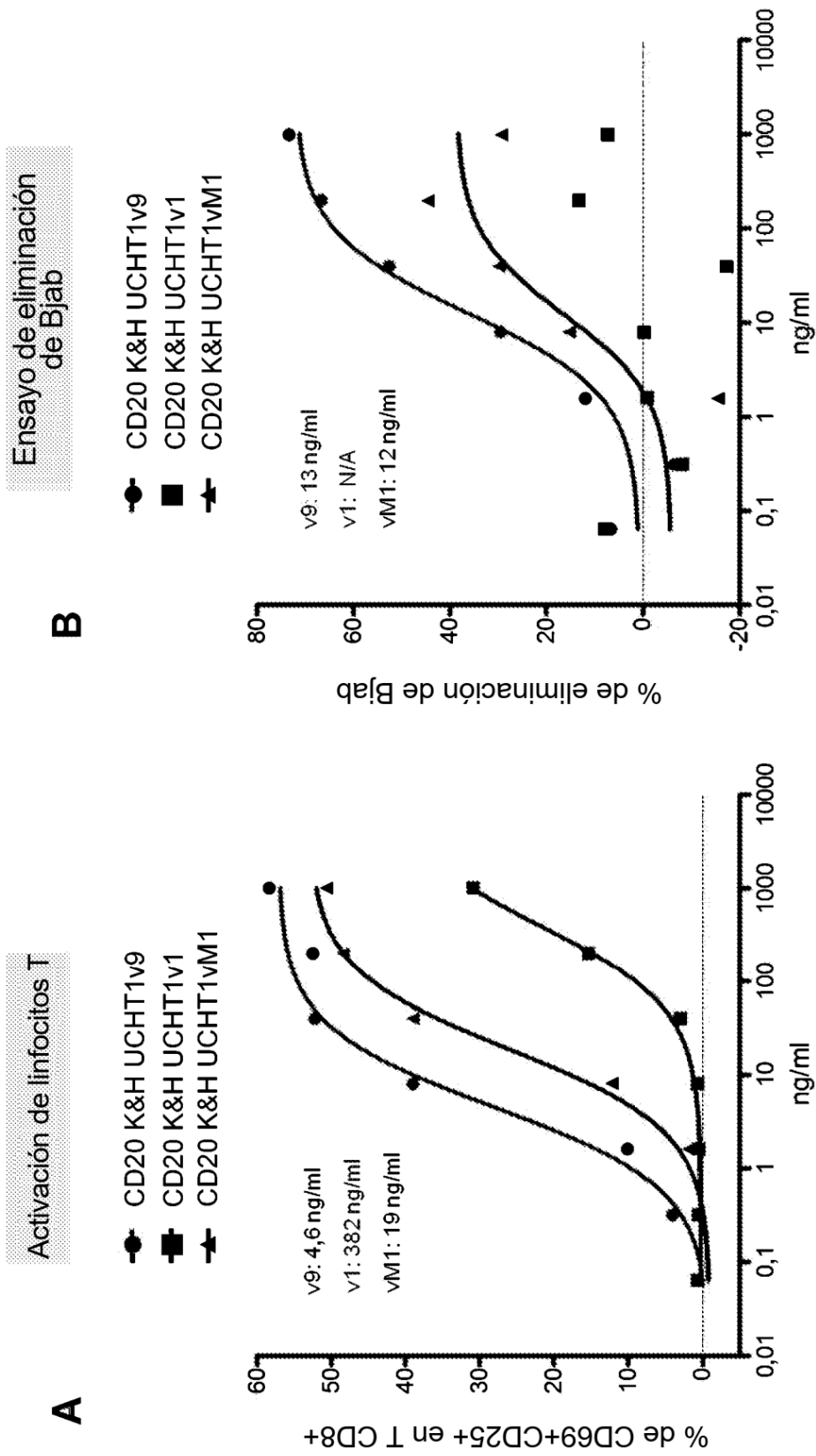


B

Ensayo de eliminación de endo B

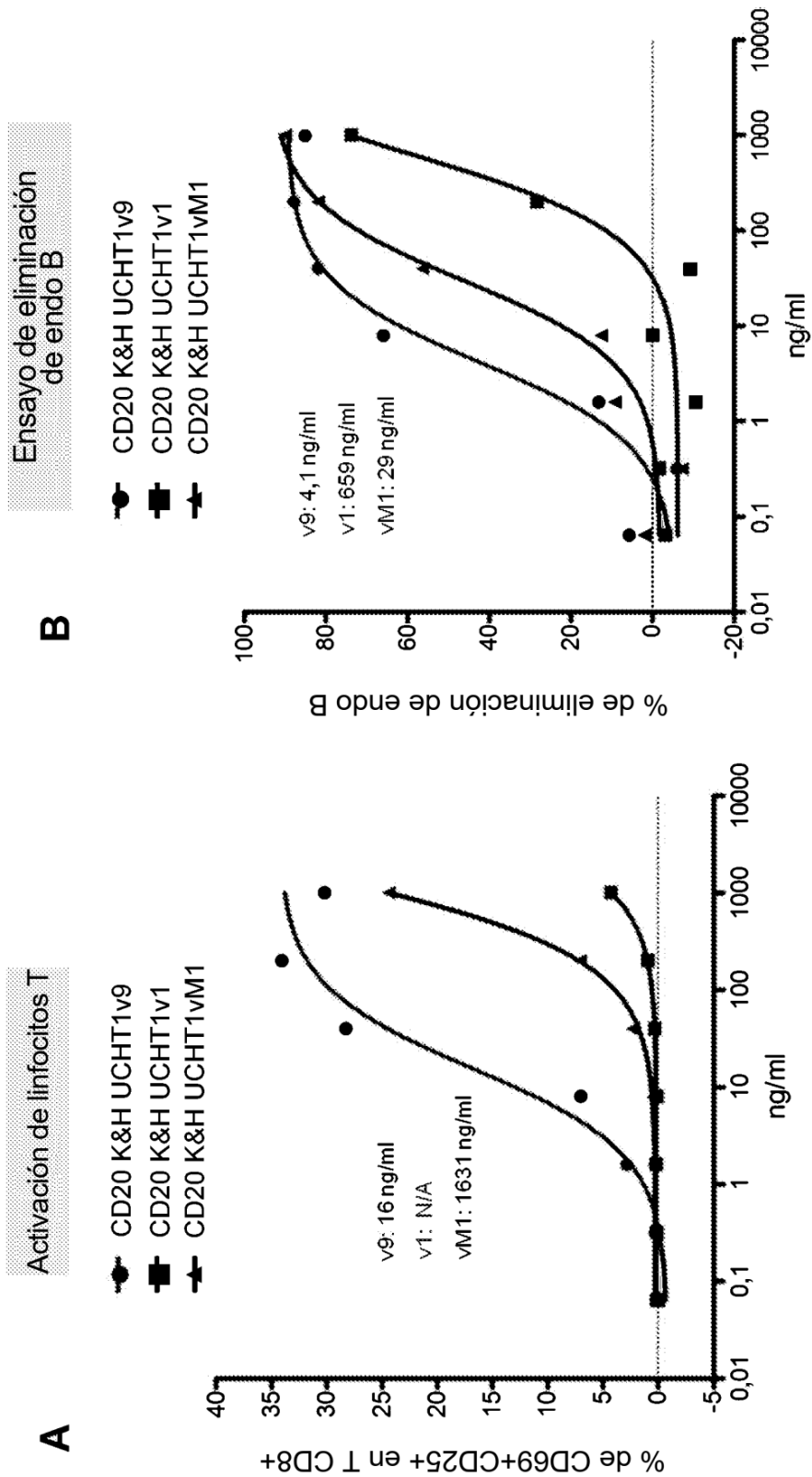


Figuras 27A-27B



20.000 Bjab con PBMC humanas purificadas 10x, dilución de anticuerpo 1:5 a partir de 1000 ng/ml, 24 horas

Figuras 28A-28B



Solo 200.000 PBMC humanas, dilución de anticuerpo 1:5 a partir de 1000 ng/ml, 24 horas.

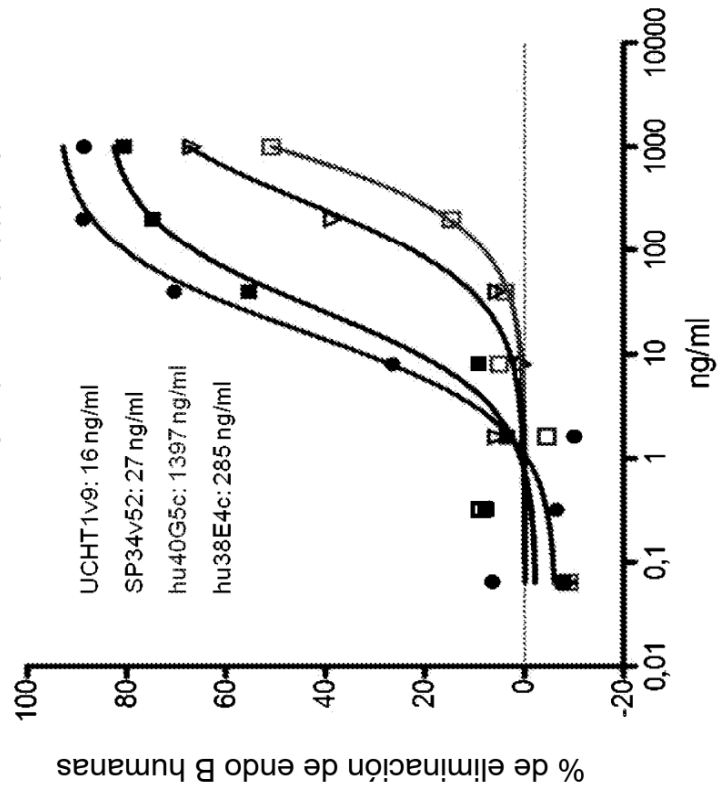
Figuras 29A-29B

Donante n.º 3

A

eliminación
de endo B

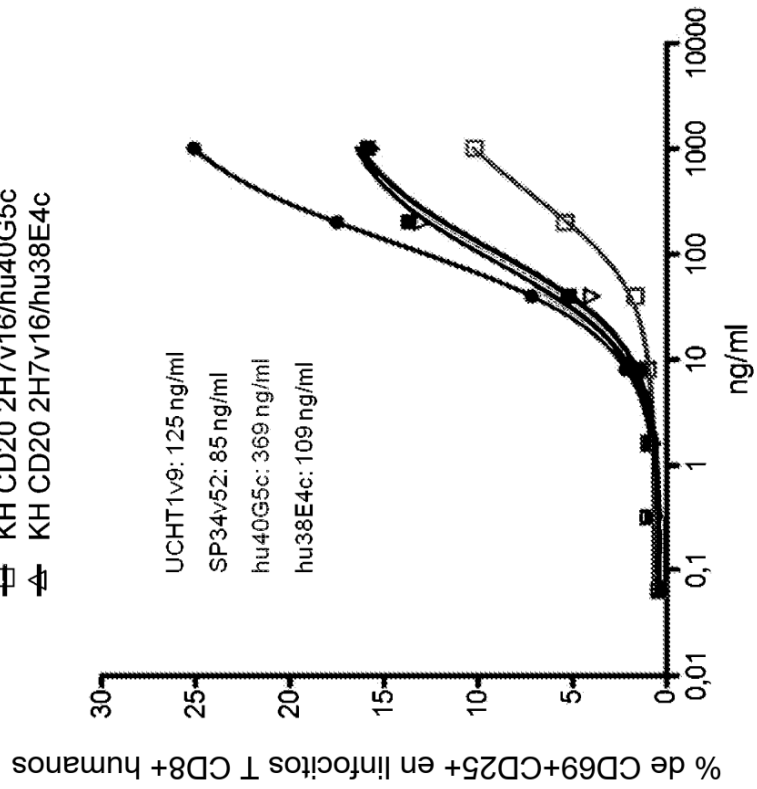
- KH CD20 2H7v16/UCHT1v9
- KH CD20 2H7v16/SP34v52
- KH CD20 2H7v16/hu40G5c
- △ KH CD20 2H7v16/hu38E4c



B

activación
de T CD8+

- KH CD20 2H7v16/UCHT1v9
- KH CD20 2H7v16/SP34v52
- KH CD20 2H7v16/hu40G5c
- △ KH CD20 2H7v16/hu38E4c



200.000 PBMC humanas por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B humanos se marcaron con CD19-v450 (BD)

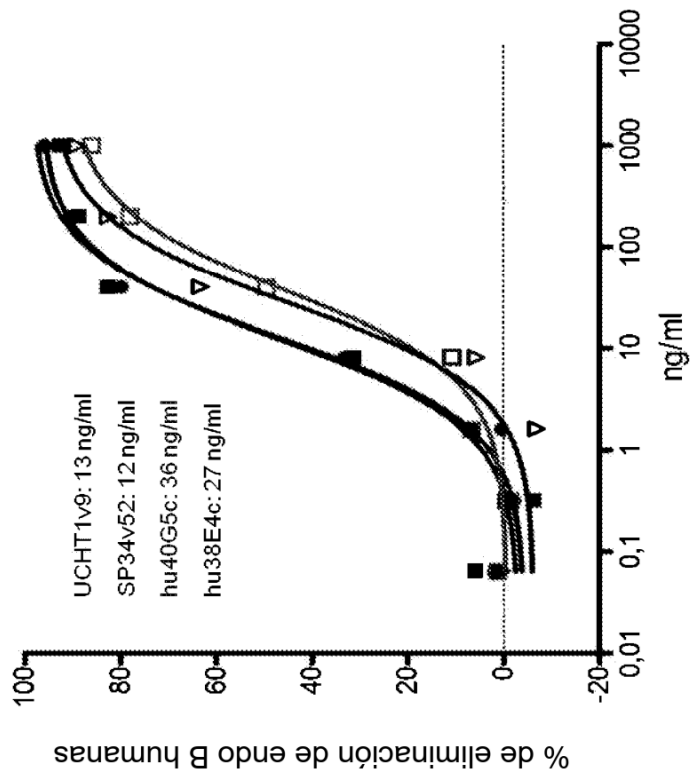
Figuras 30A-30B

Donante n.º 4

A

eliminación
de endo B

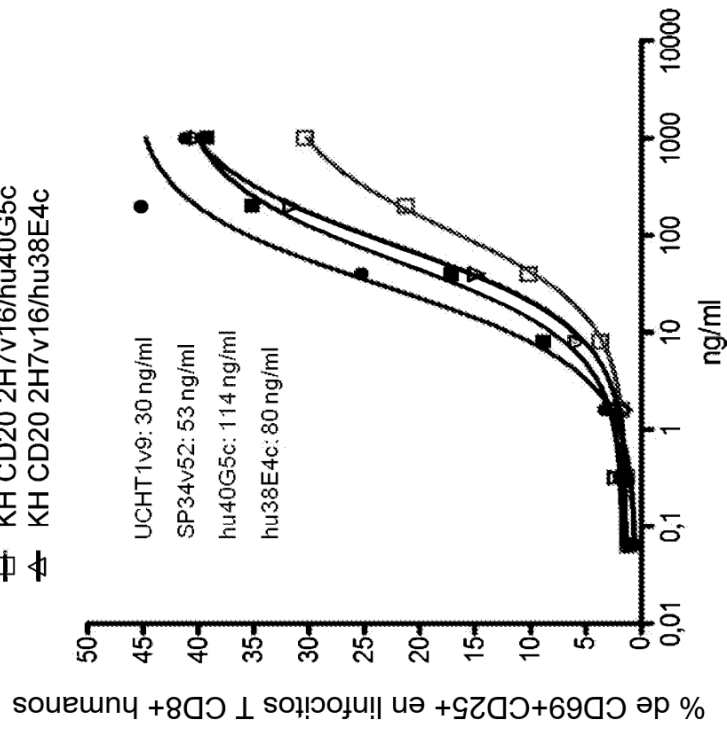
- KH CD20 2H7v16/UCHT1v9
- KH CD20 2H7v16/SP34v52
- KH CD20 2H7v16/hu40G5c
- △ KH CD20 2H7v16/hu38E4c



B

activación
de T CD8+

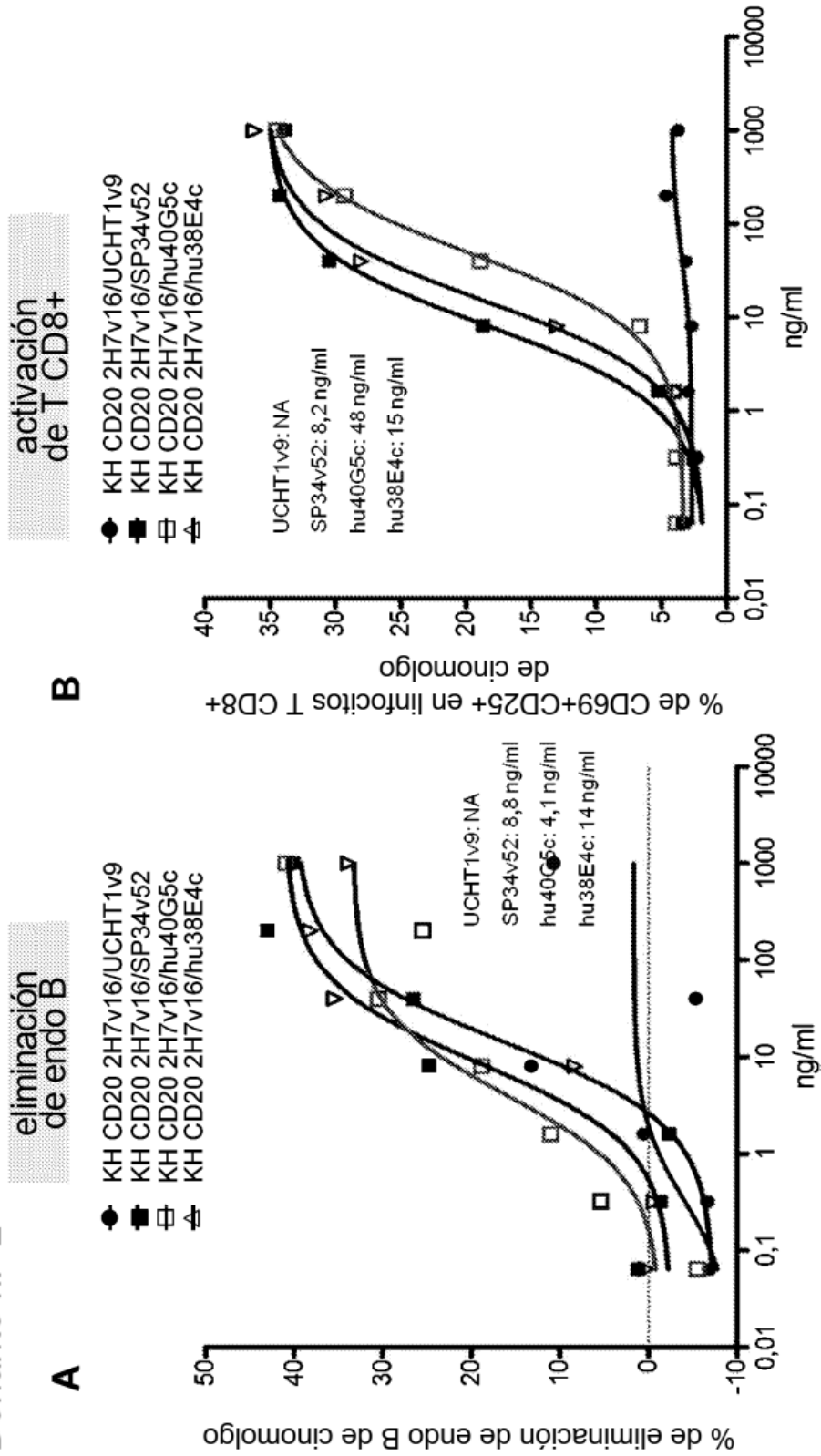
- KH CD20 2H7v16/UCHT1v9
- KH CD20 2H7v16/SP34v52
- KH CD20 2H7v16/hu40G5c
- △ KH CD20 2H7v16/hu38E4c



200.000 PBMC humanas por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B humanos se marcaron con CD19-v450 (BD)

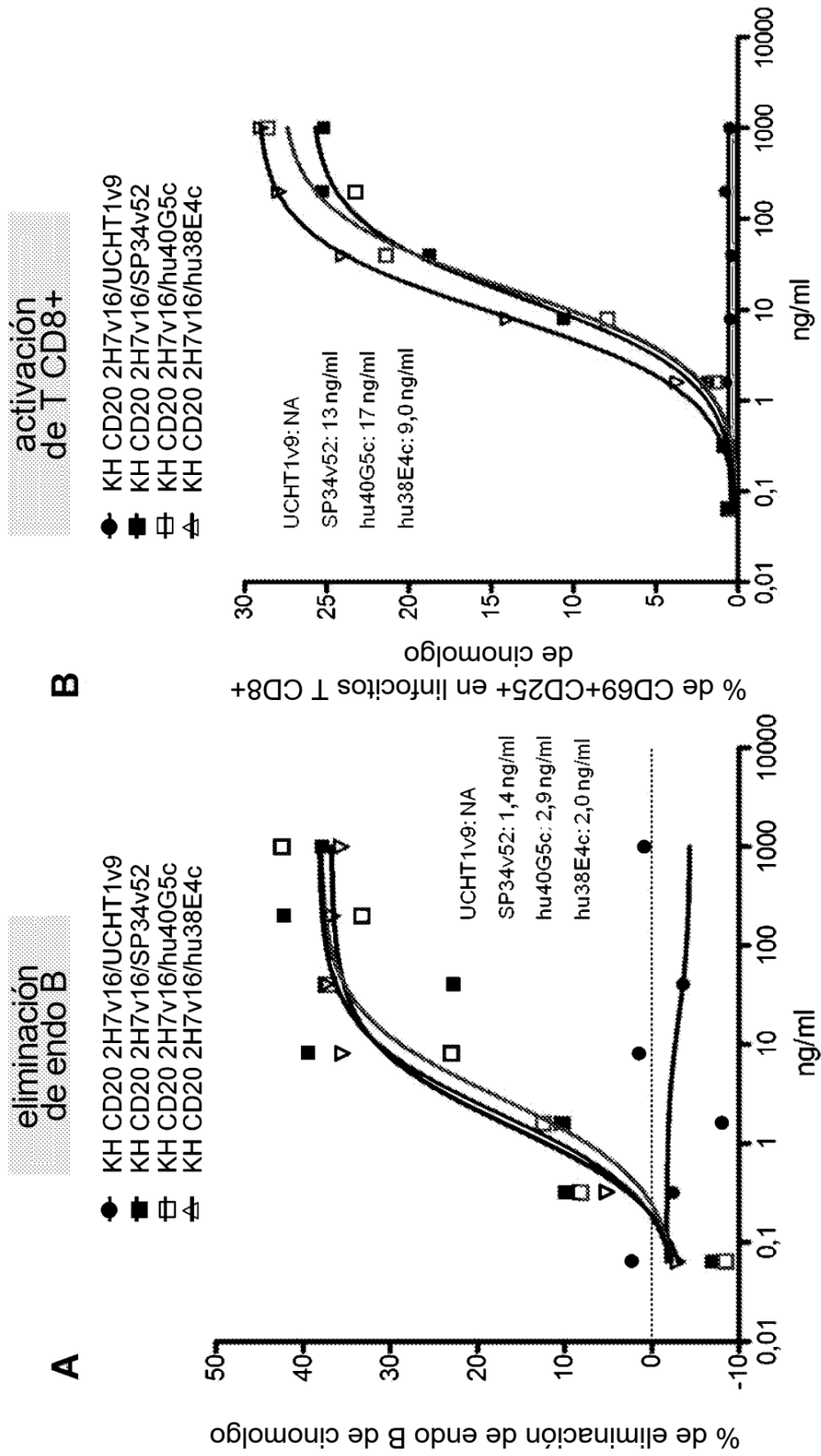
Figuras 31A-31B

Donante n.º 2



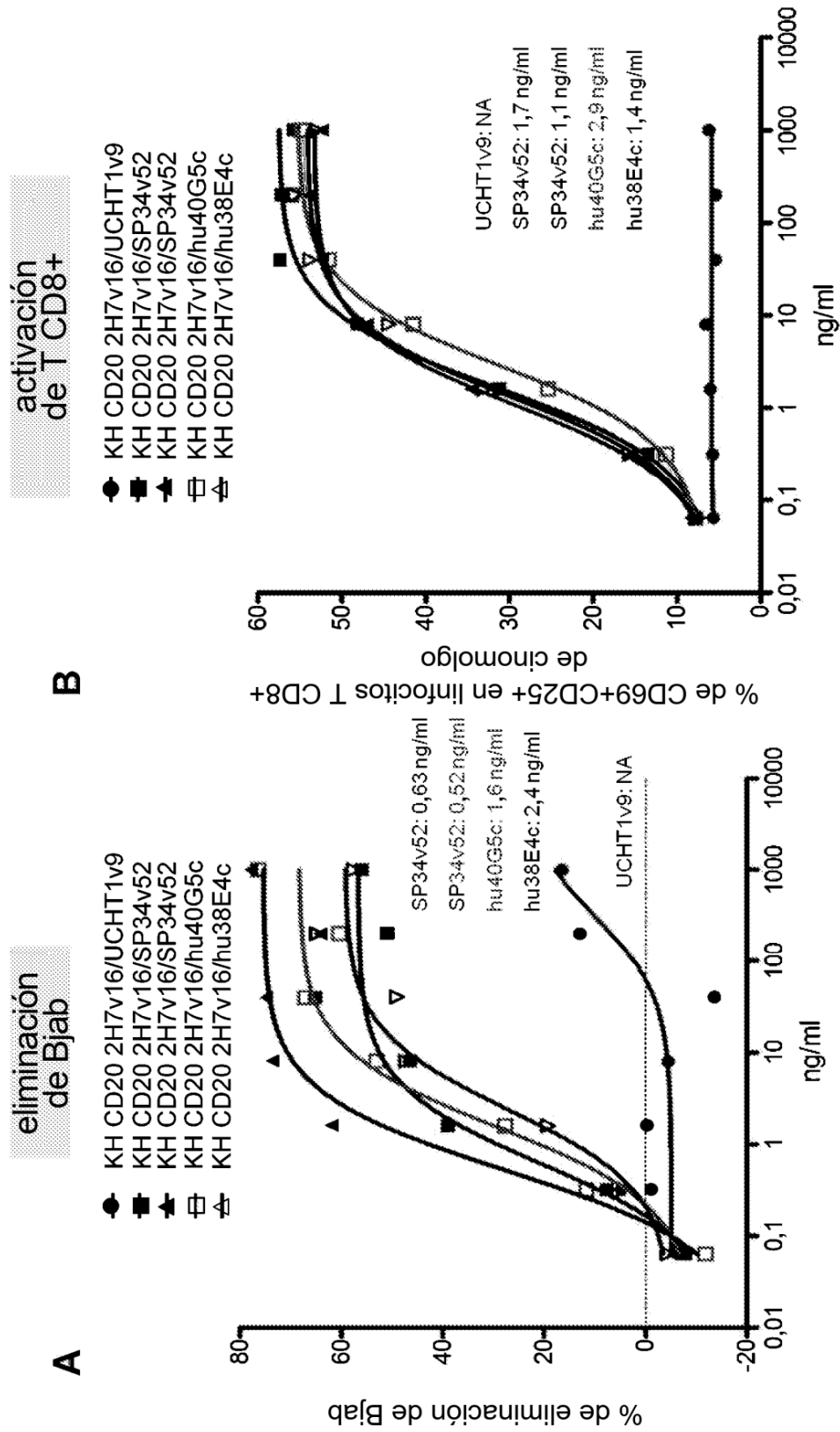
200.000 PBMC de cinomolgo por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B de cinomolgo se marcaron con cynoCD79b-PE (propio)

Figuras 32A-32B



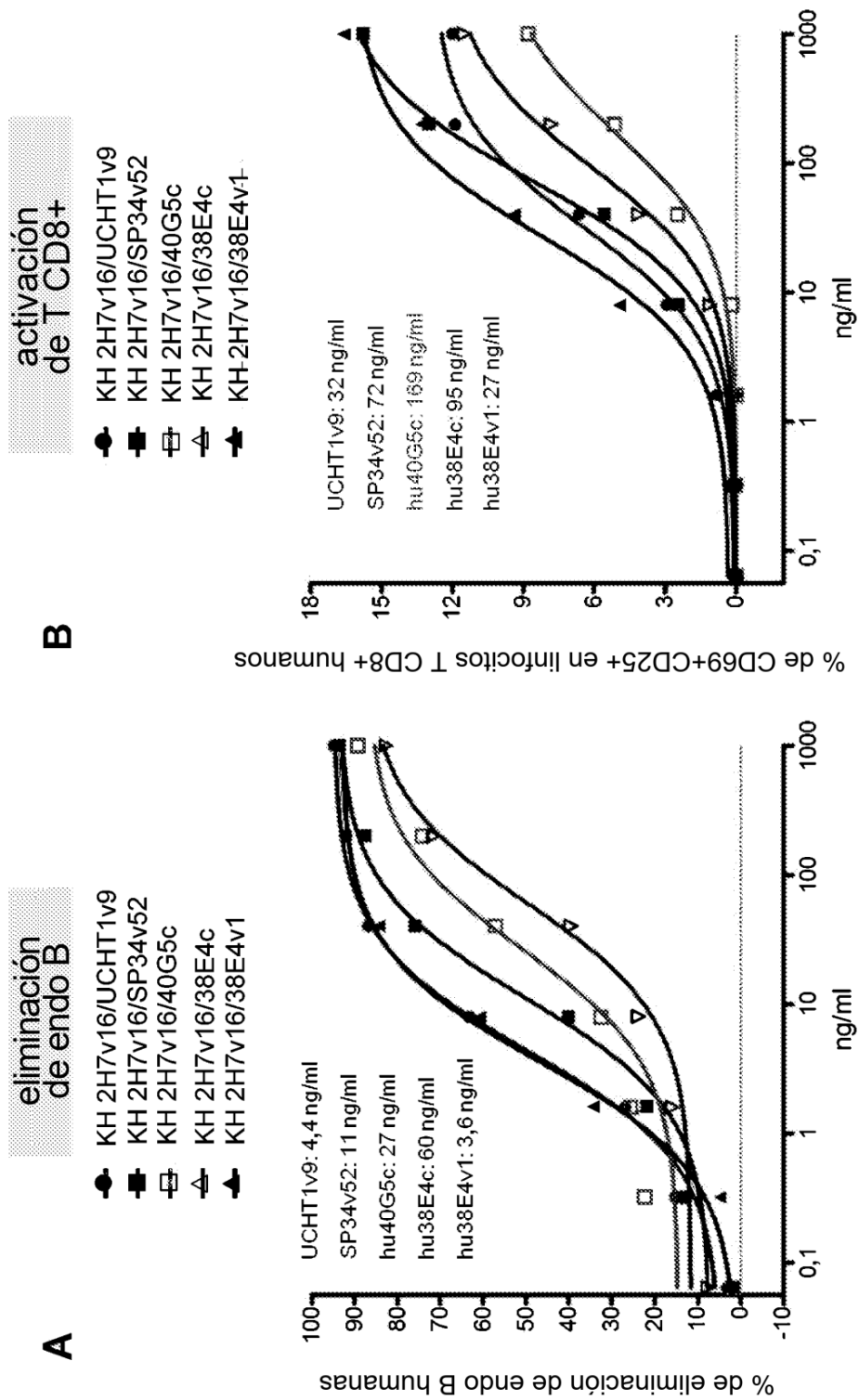
200.000 PBMC de cinomolgo por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B de cinomolgo se marcaron con cynoCD79b-PE (propio)

Figuras 33A-33B



200.000 PBMC de cinomolgo por pocillo, 24 horas. Las células Bjab se marcaron con CD19-PE (BD)

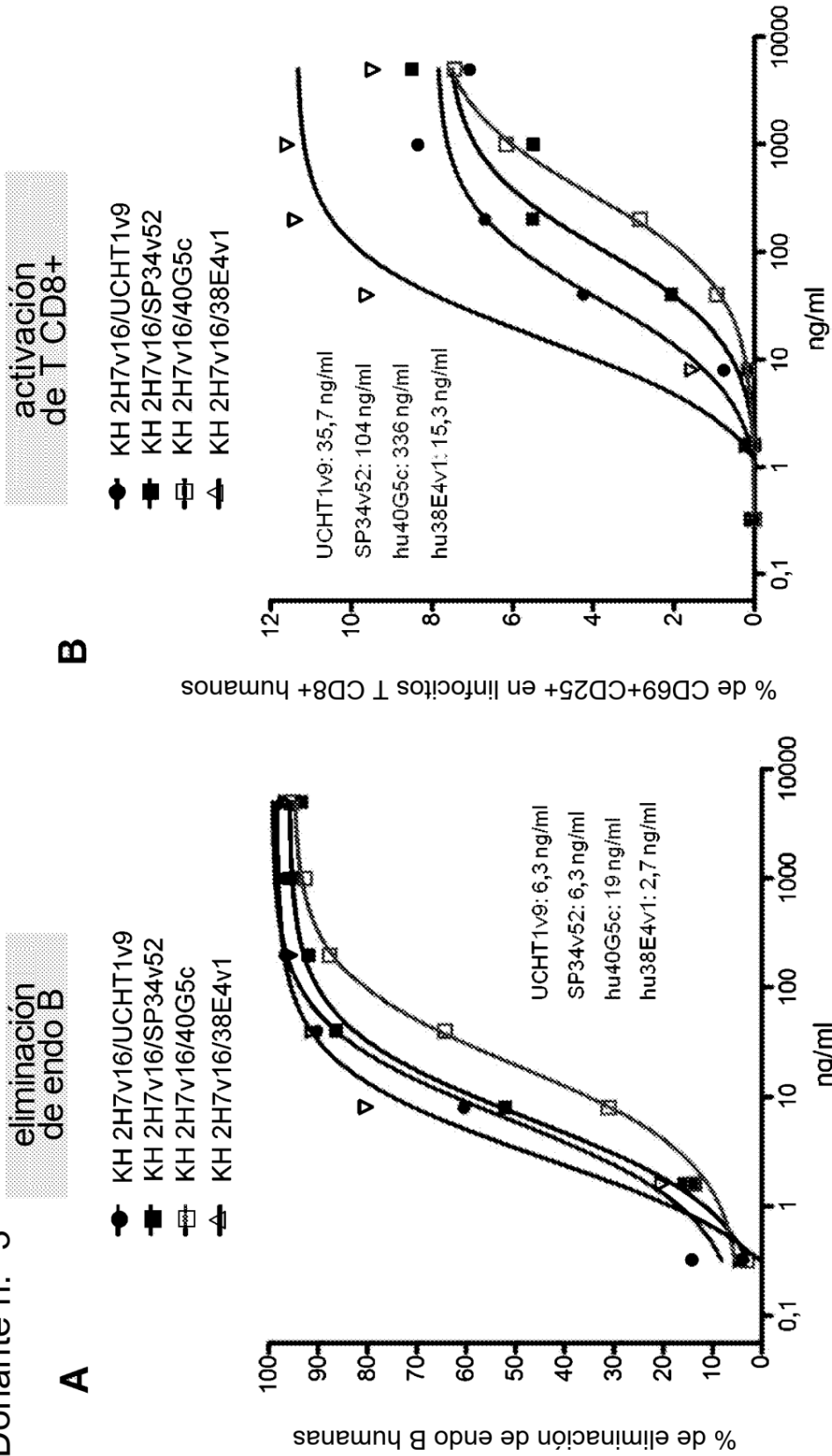
Figuras 34A-34B



200.000 PBMC humanas por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B humanos se marcaron con CD19-v450 (BD)

Figuras 35A-35B

Donante n.º 3



200.000 PBMC humanas por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B humanos se marcaron con CD19-v450 (BD).

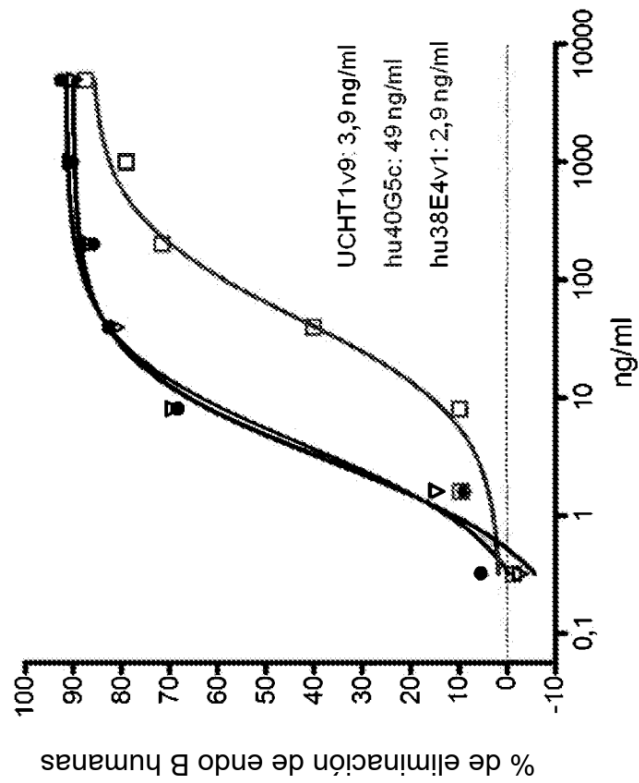
Figuras 36A-36B

Donante n.º 4

A

eliminación
de endo B

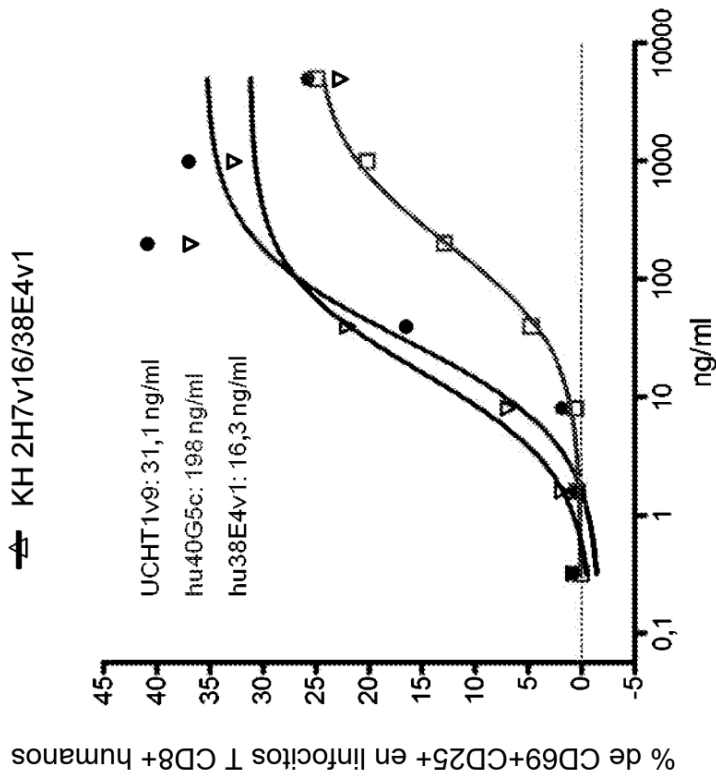
- KH 2H7v16/UCHT1v9
- KH 2H7v16/40G5c
- △ KH 2H7v16/38E4v1



B

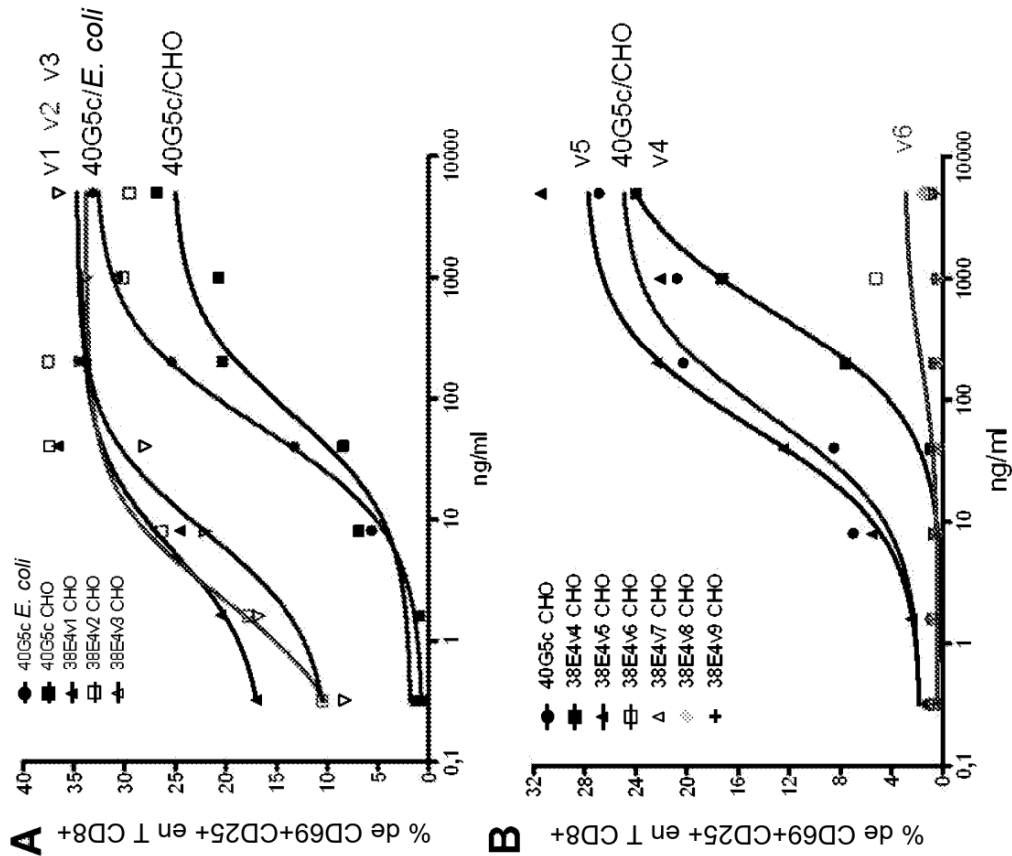
activación
de T CD8+

- KH 2H7v16/UCHT1v9
- KH 2H7v16/40G5c
- △ KH 2H7v16/38E4v1

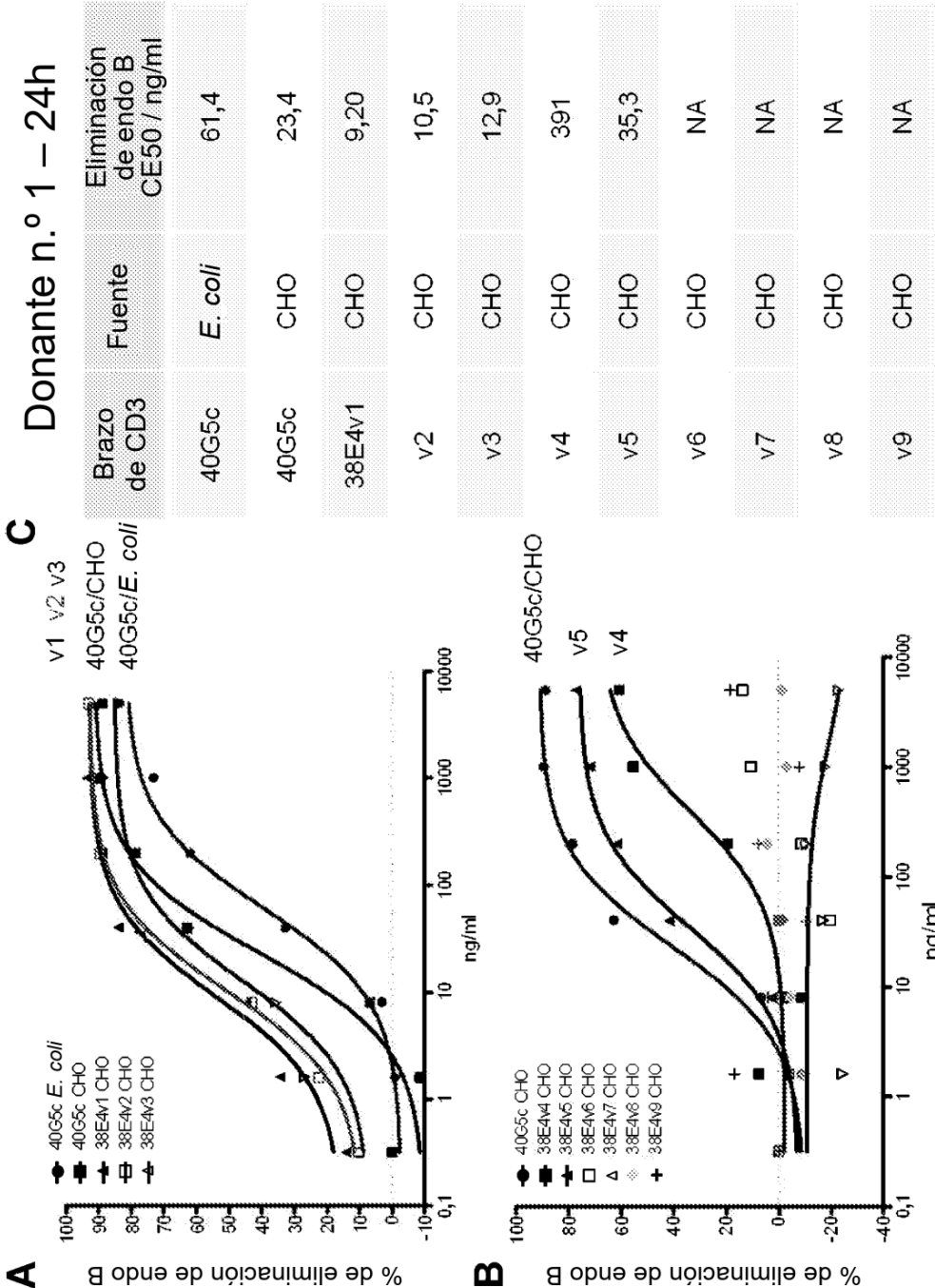


200.000 PBMC humanas por pocillo, 24 horas. Los linfocitos B humanos se marcaron con CD19-v450 (BD).

Figuras 37A-37C



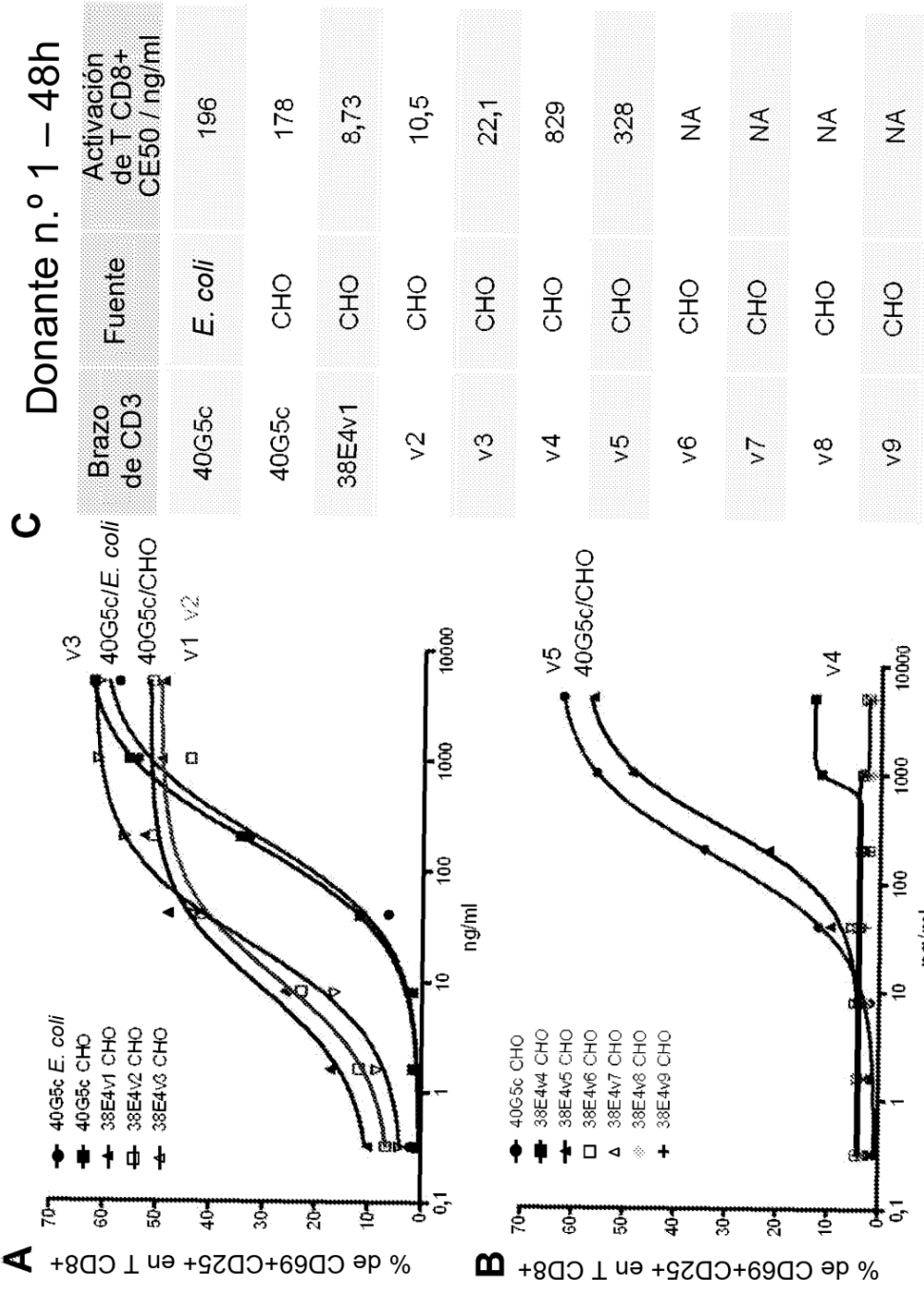
Figuras 38A-38C



* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

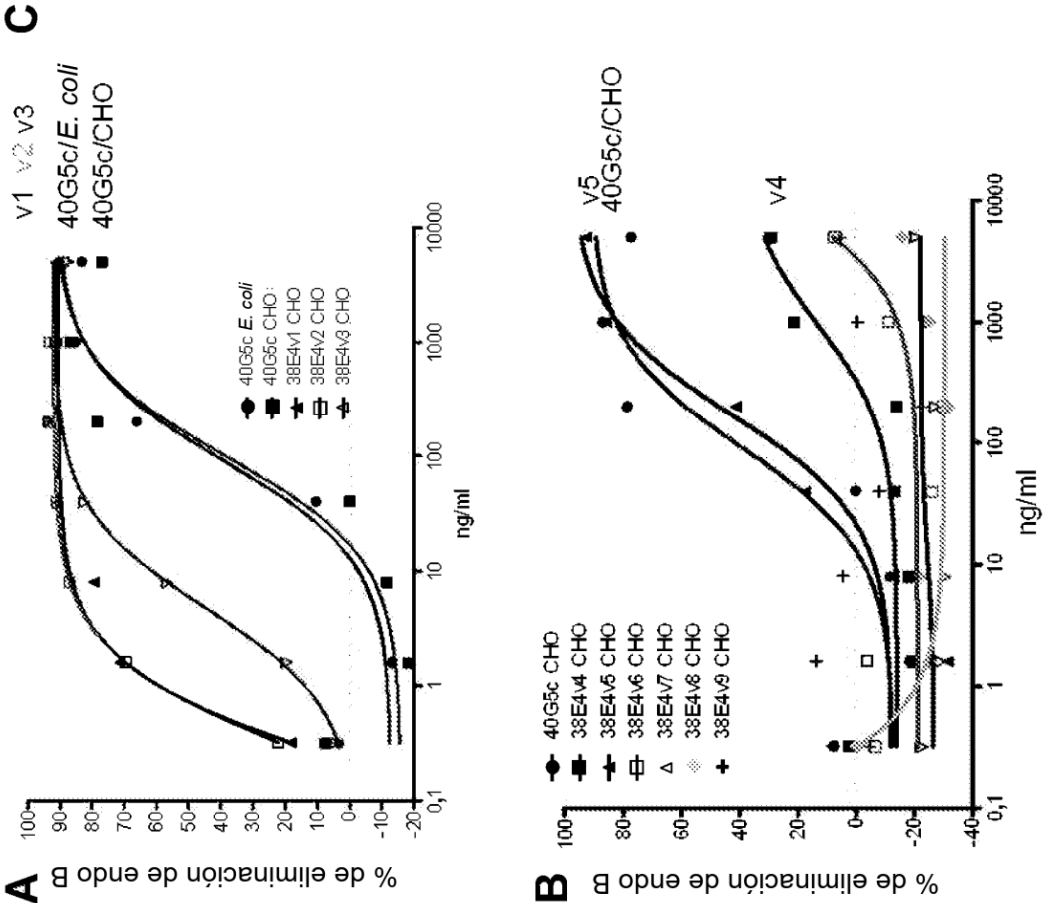
Figuras 39A-39C



* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

Figuras 40A-40C

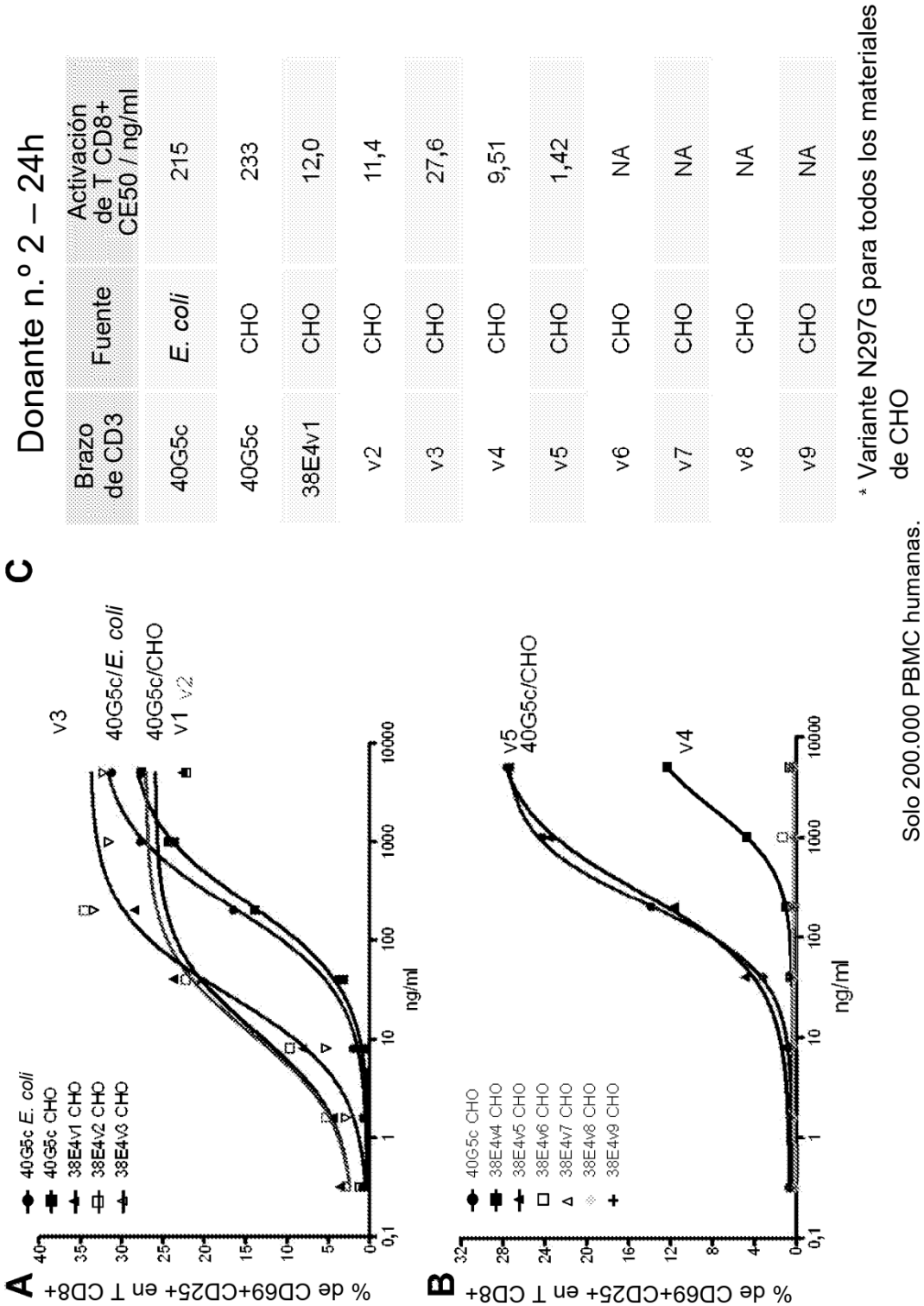


Donante n.º 1 – 48h		
Brazo de CD3	Fuente	Eliminación de endo B CE50 / ng/ml
40G5c	<i>E. coli</i>	99,5
40G5c	CHO	92,0
38E4v1	CHO	0,197
v2	CHO	0,282
v3	CHO	4,84
v4	CHO	934
v5	CHO	173
v6	CHO	NA
v7	CHO	NA
v8	CHO	NA
v9	CHO	NA

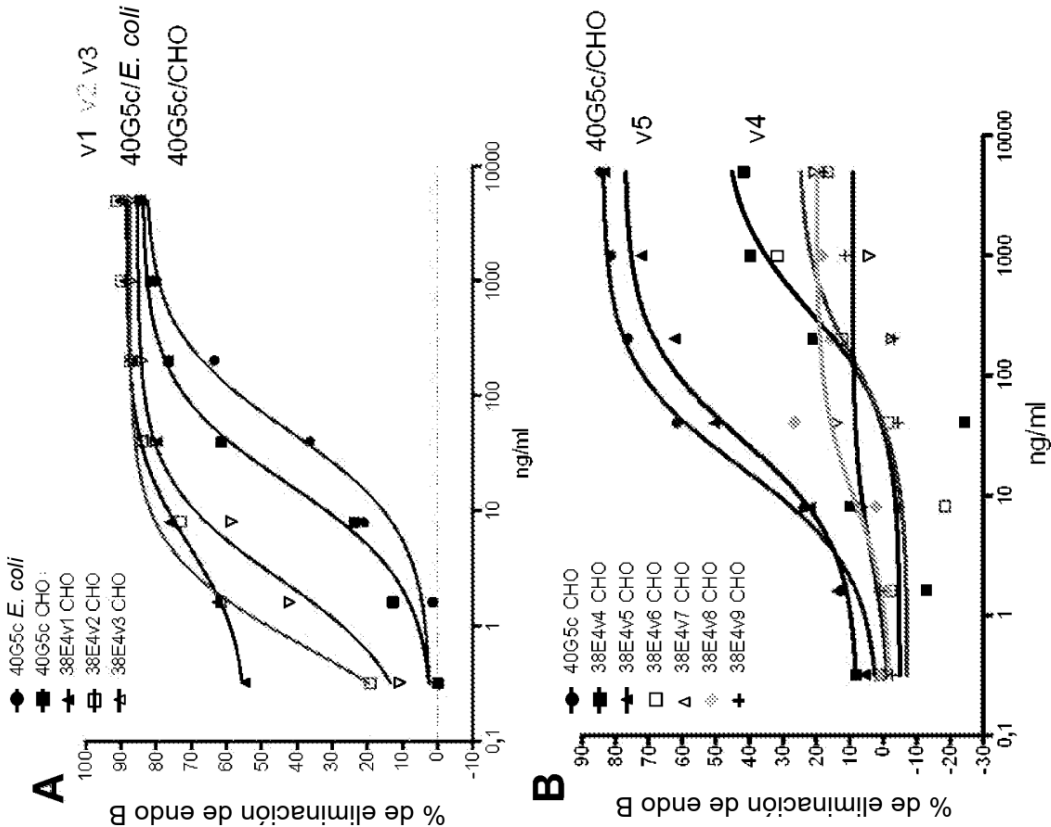
* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

Figuras 41A-41C



Figuras 42A-42C

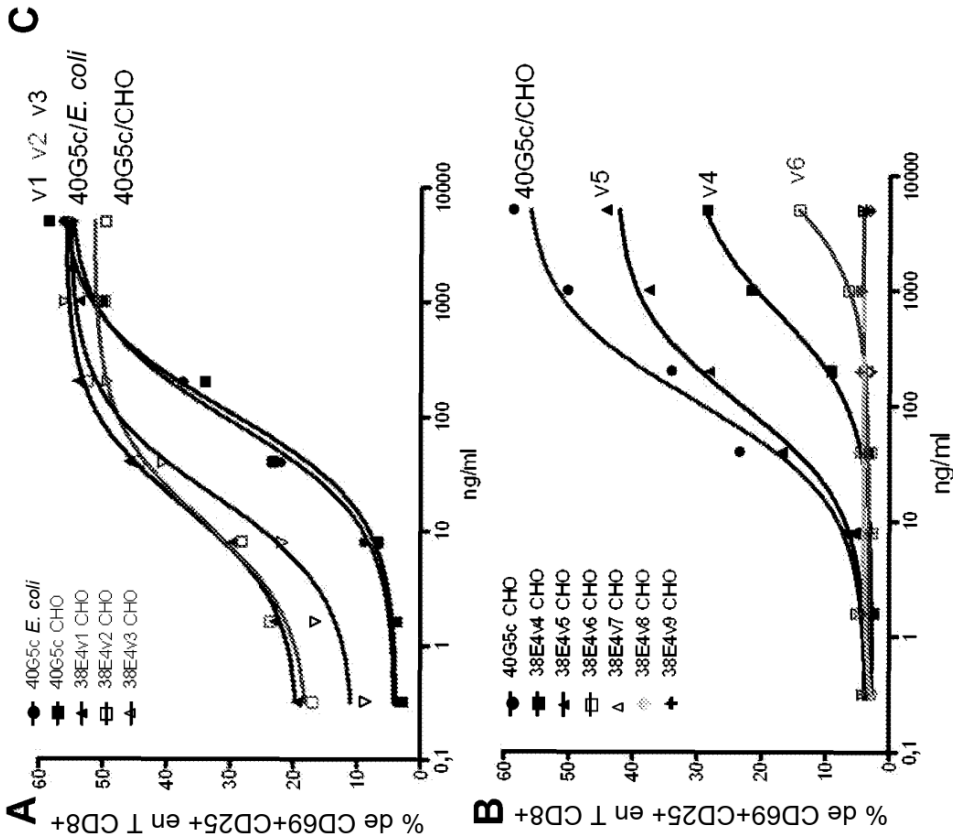


Donante n.º 2 – 24h		
Brazo de CD3	Fuente	Eliminación de endo B CE50 / ng/ml
40G5c	<i>E. coli</i>	50,3
40G5c	CHO	17,1
38E4v1	CHO	5,21
v2	CHO	0,624
v3	CHO	2,55
v4	CHO	343
v5	CHO	29,4
v6	CHO	NA
v7	CHO	NA
v8	CHO	NA
v9	CHO	NA

* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

Figuras 43A-43C

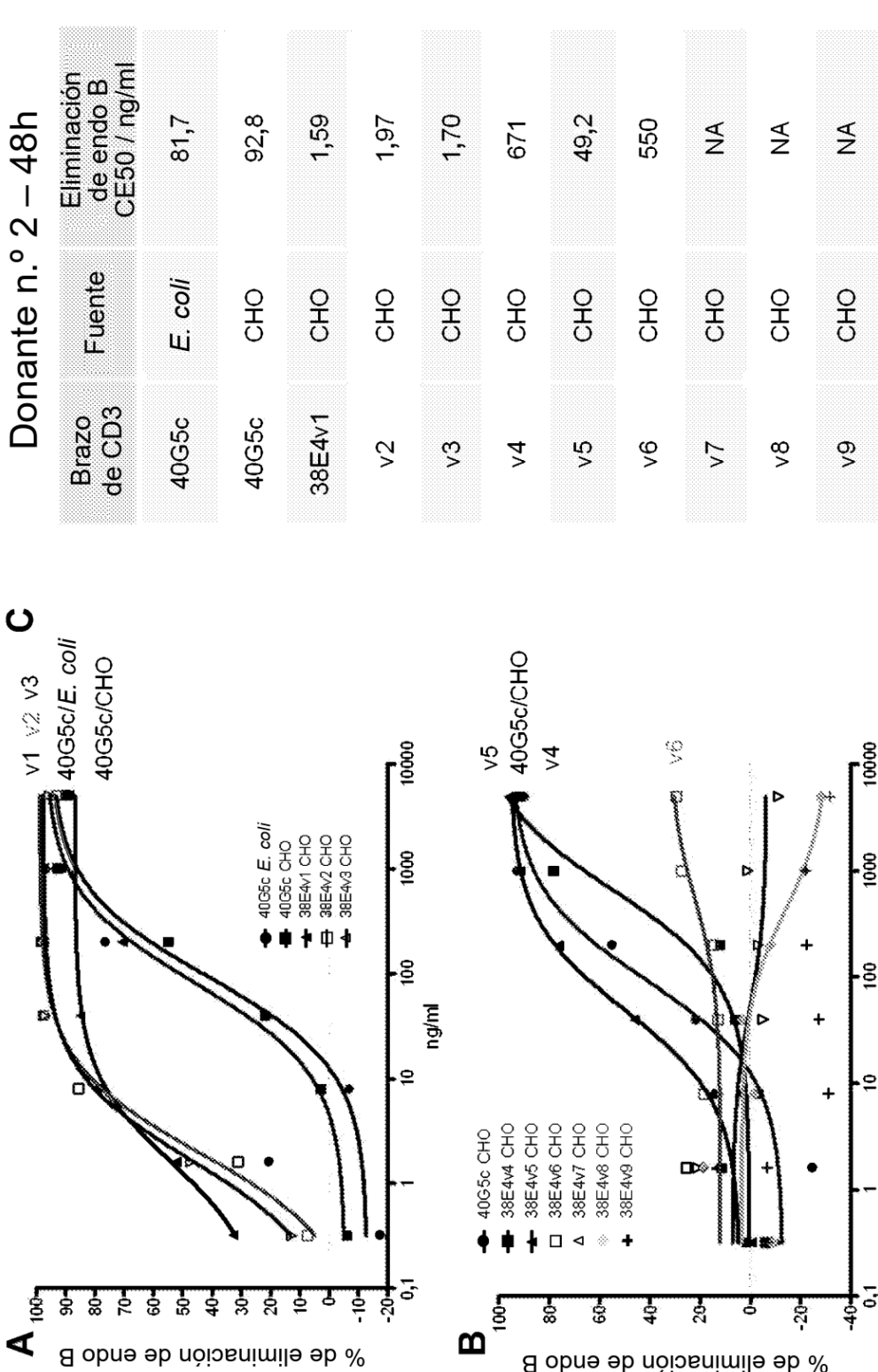


Donante n.º 2 – 48h		
Brazo de CD3	Fuente	Activación de T CD8+ CE50 / ng/ml
40G5c	<i>E. coli</i>	90,4
40G5c	CHO	111
38E4v1	CHO	16,7
v2	CHO	12,6
v3	CHO	21,0
v4	CHO	631
v5	CHO	102
v6	CHO	8820
v7	CHO	NA
v8	CHO	NA
v9	CHO	NA

* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

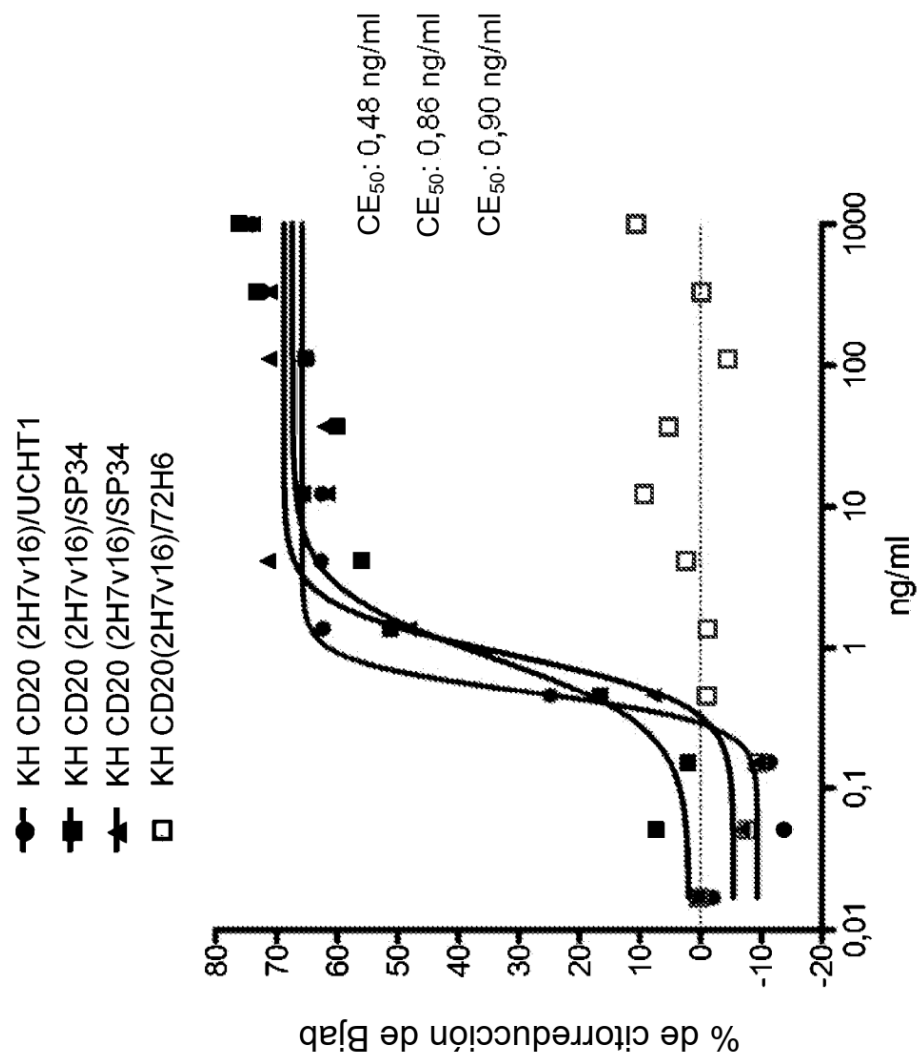
Figuras 44A-44C



* Variante N297G para todos los materiales de CHO

Solo 200.000 PBMC humanas.

Figura 45A

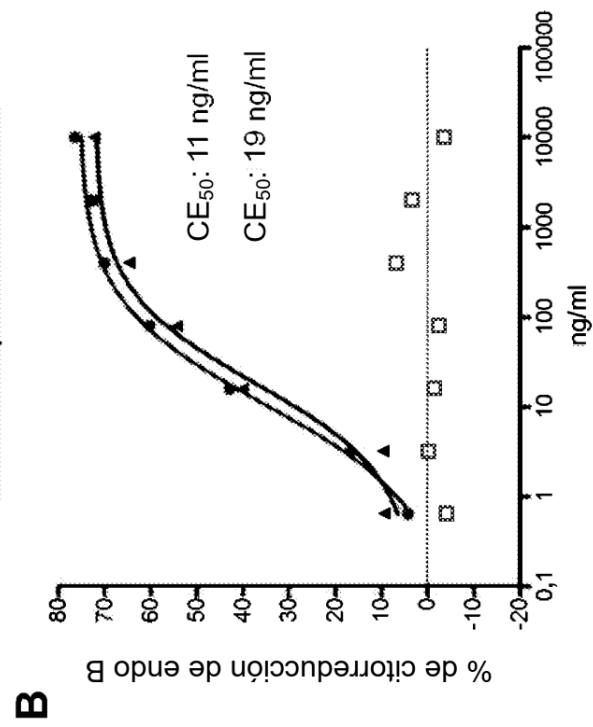


20.000 células Bjab-luc por pocillo con huPBMC 10x, 24 horas.

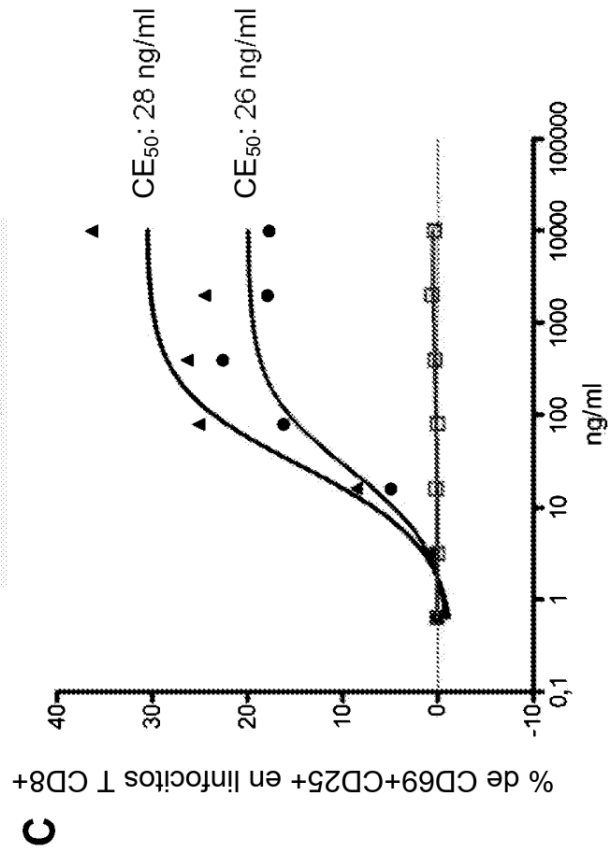
Figuras 45B-45C

- KH CD20 (2H7v16)/UCHT1
- ▲ KH CD20 (2H7v16)/SP34
- KH CD20(2H7v16)/72H6

Eliminación de B periféricas

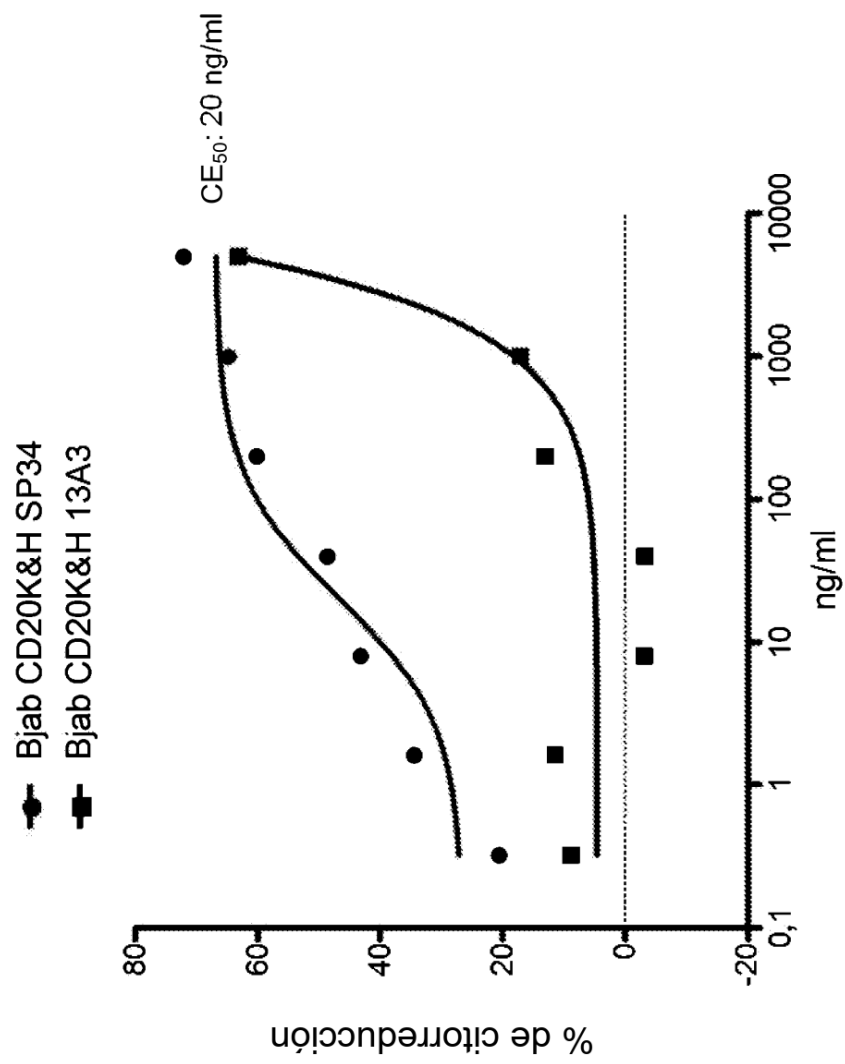


Activación de T CD8+



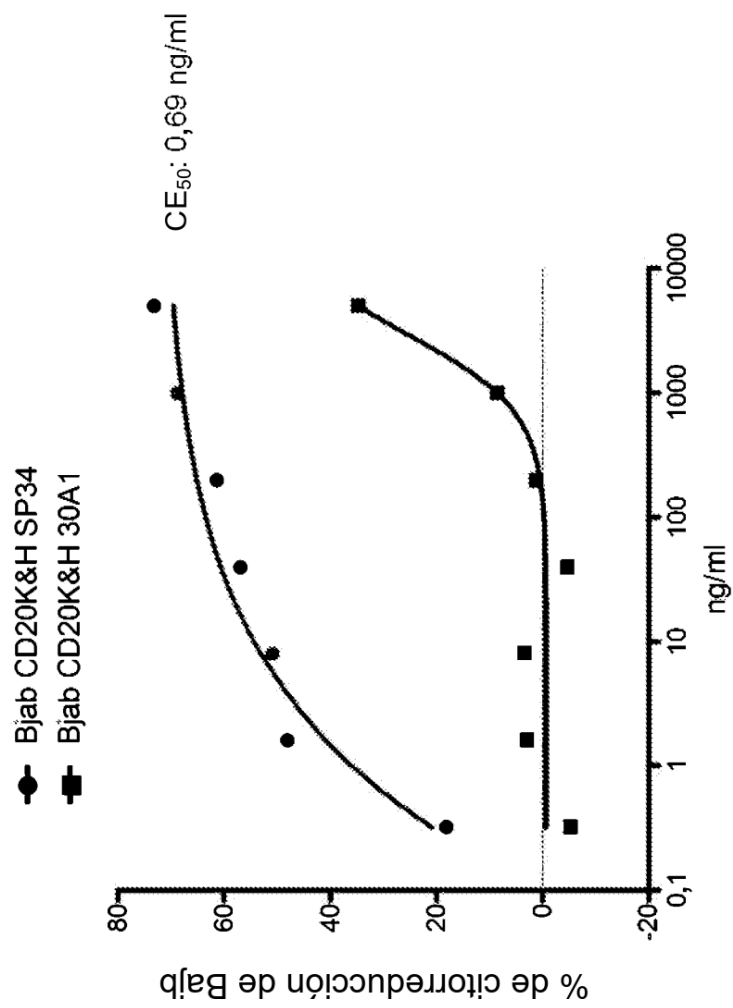
Solo 200.000 PBMC humanas, 24 horas.

Figura 46A



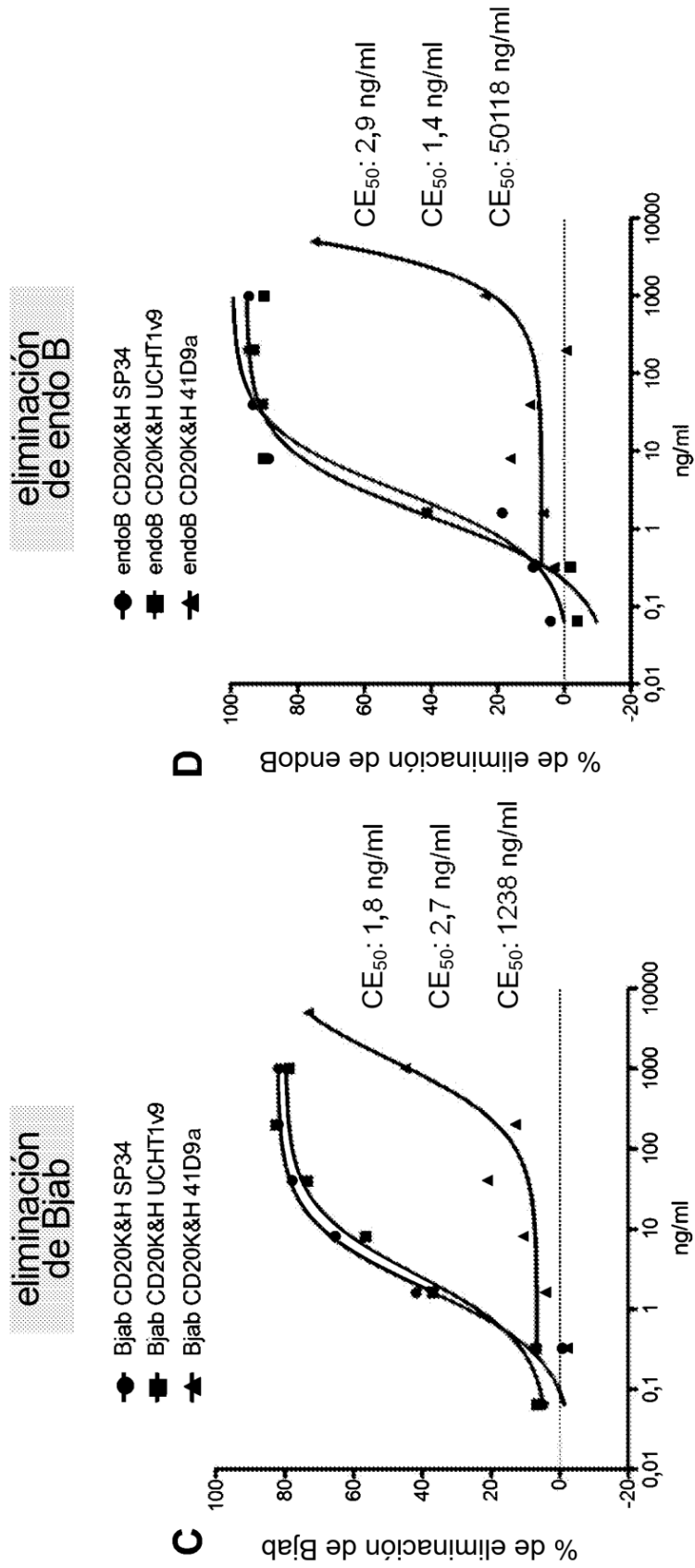
20.000 células Bjab-luc por pocillo con huPBM 10x, 24 horas.
Hasta 5000 ng/ml de anticuerpo.

Figura 46B



20.000 células Bjab-luc por pocillo con huPBMC 10x, 24 horas.
Hasta 5000 ng/ml de anticuerpo.

Figuras 46C-46D



20.000 células Bjab-luc por pocillo con huPBMC 10x o solo PBMC, 24 horas.

Figura 46E

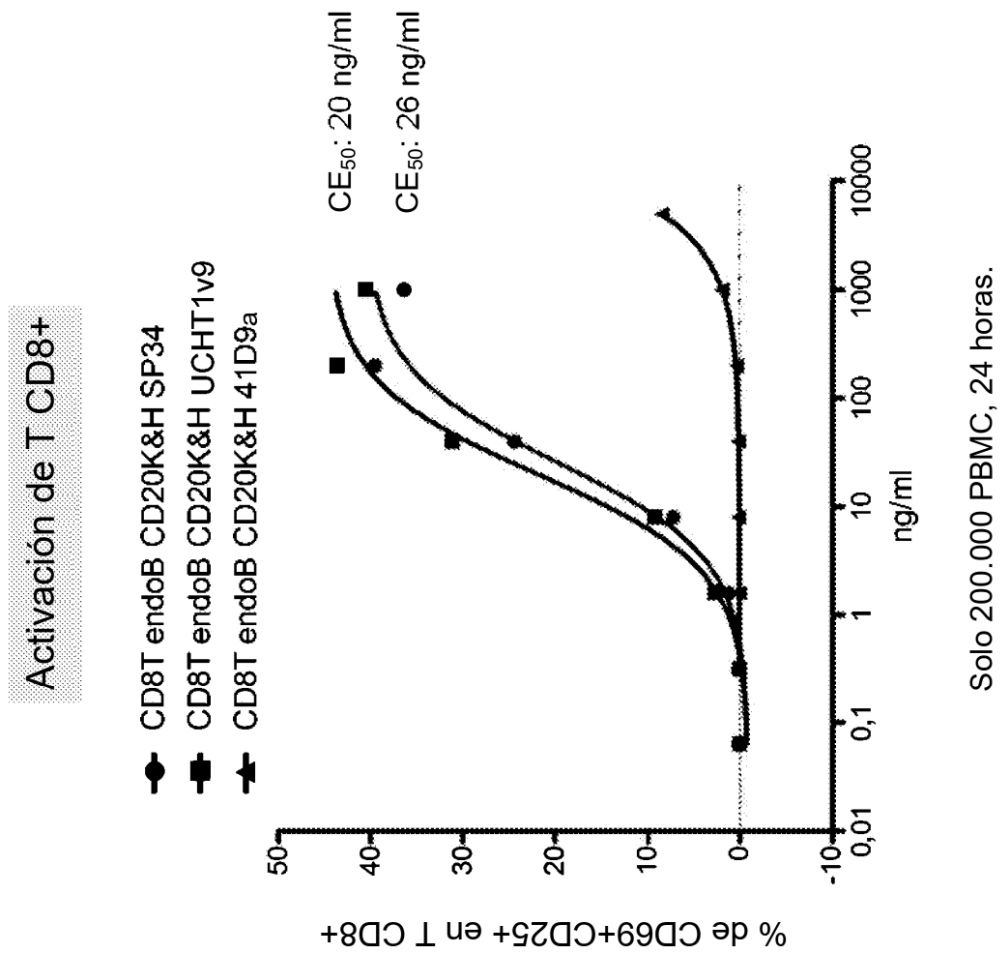


Figura 47A

Donante n.º 1

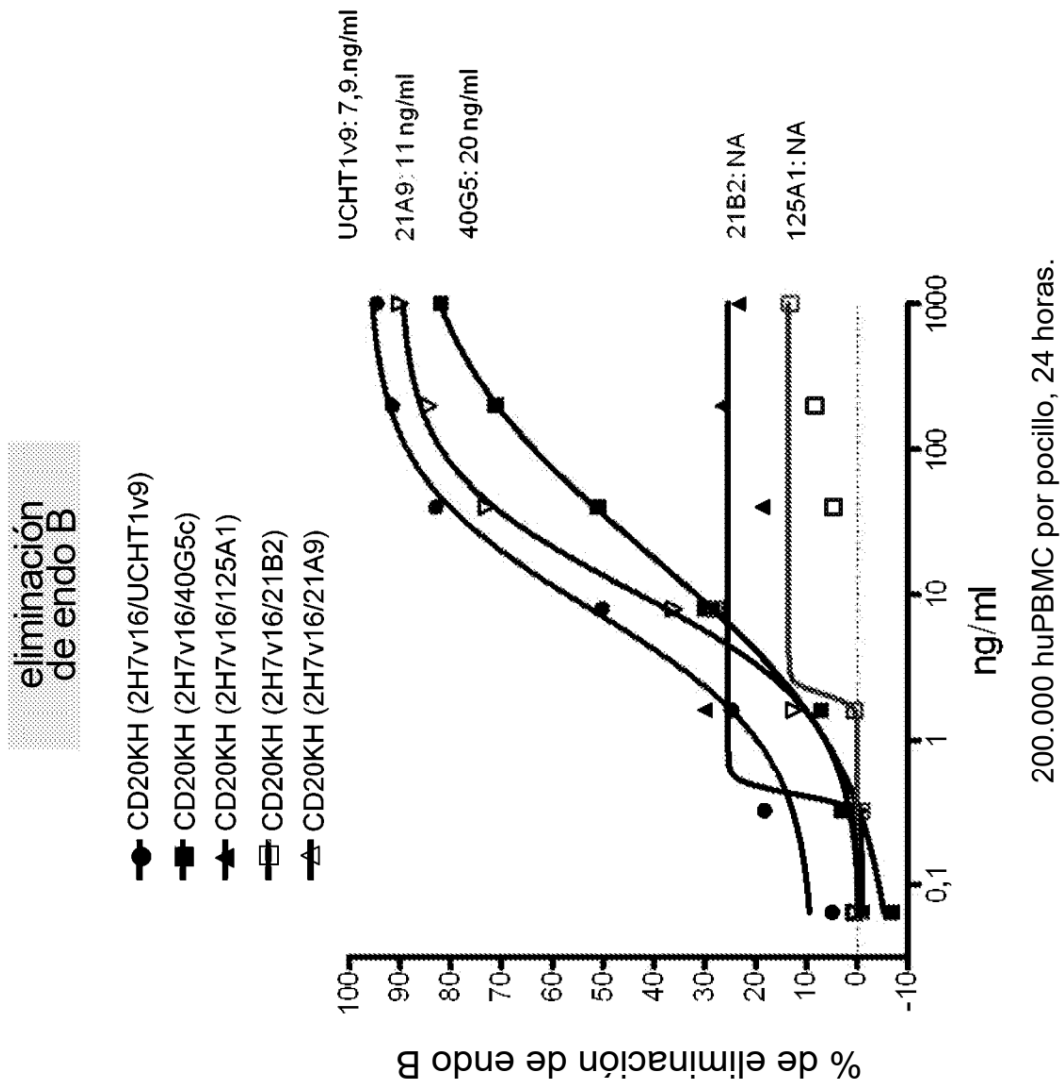


Figura 47B

Donante n.º 1

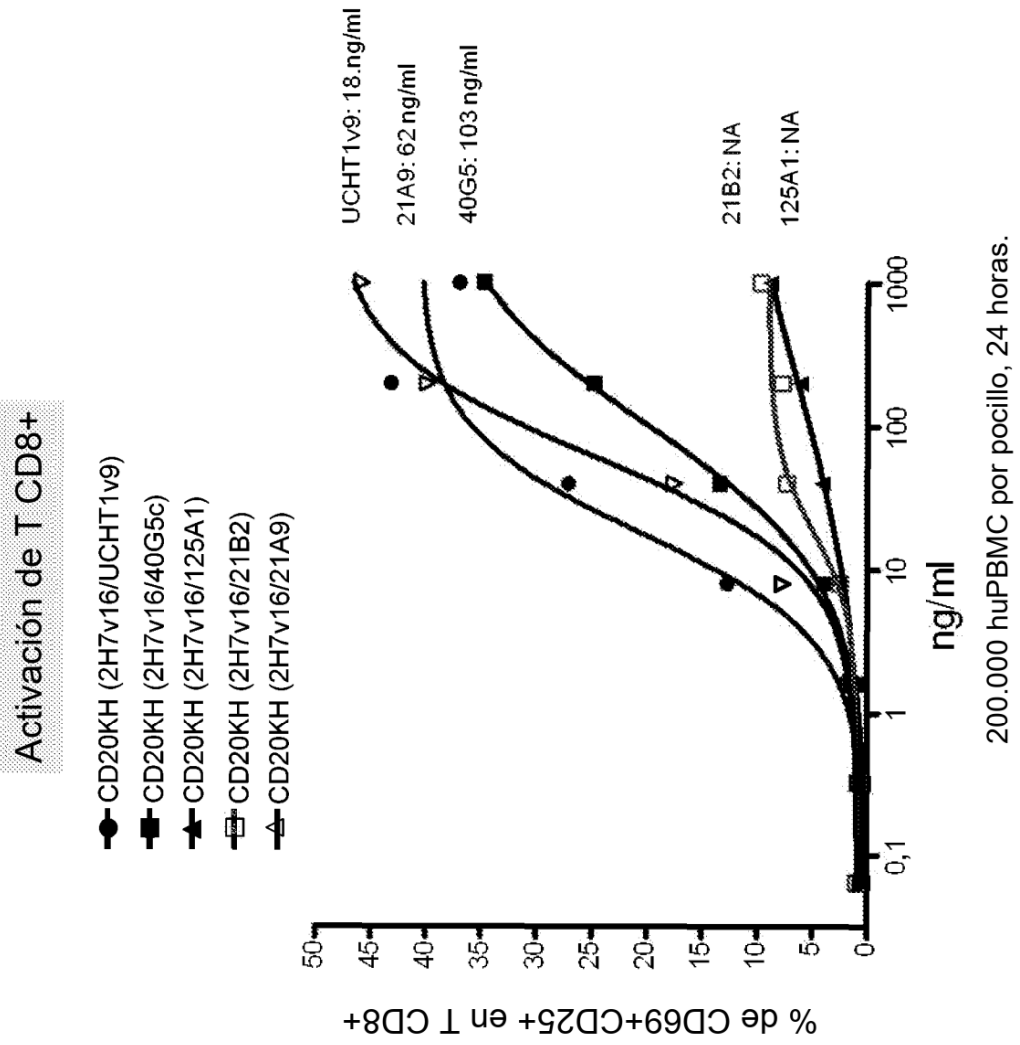
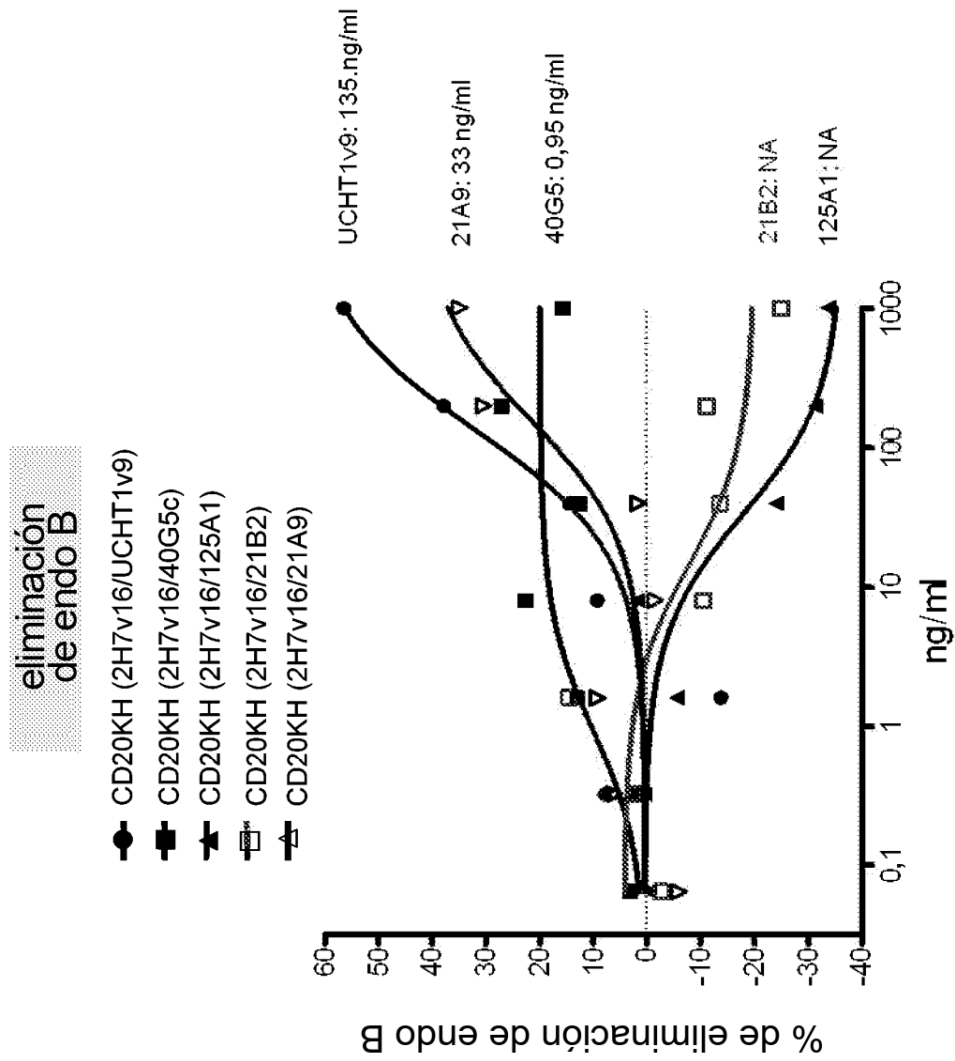


Figura 48A
Donante n.º 2



200.000 huPBMC por pocillo, 24 horas.

Figura 48B

Donante n.º 2

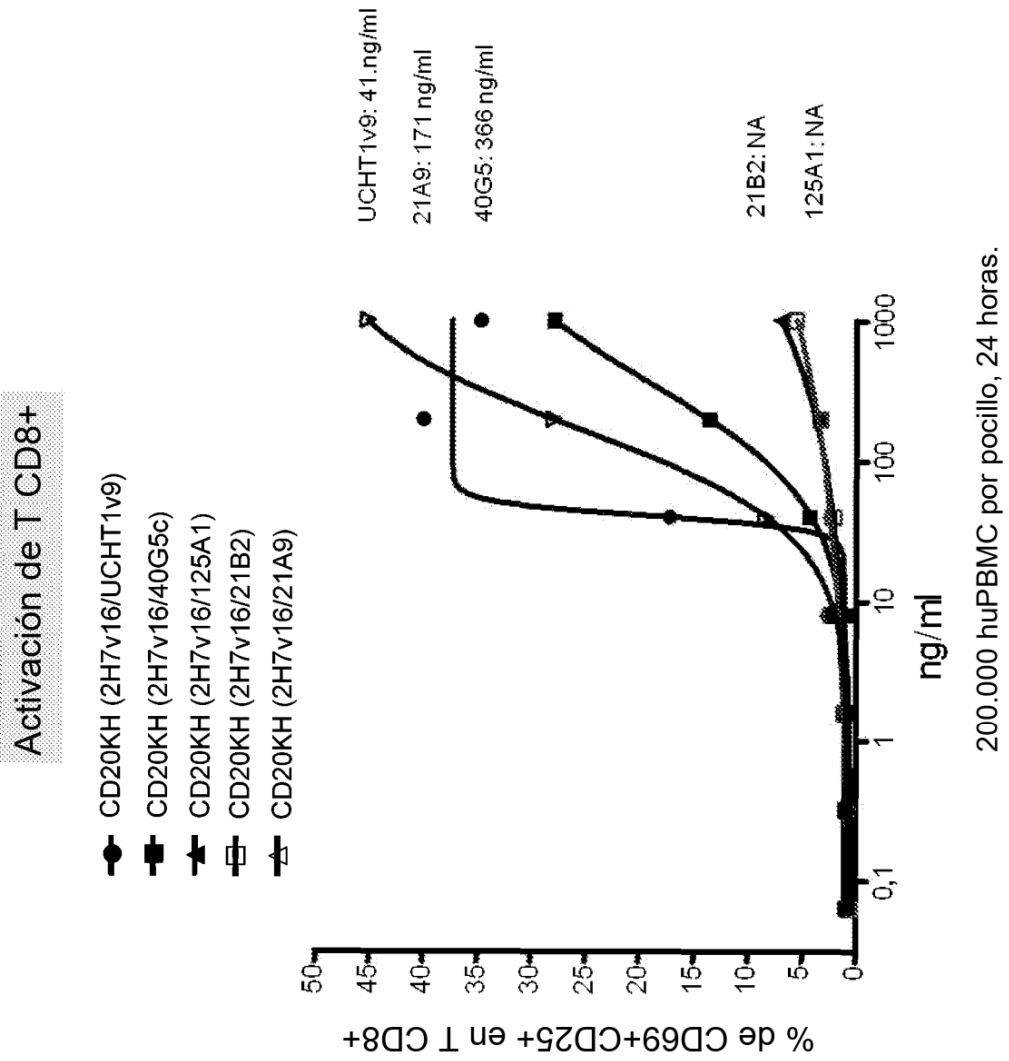


Figura 49

Brazo de CD20	Brazo de CD3	Formato	Potencia <i>in vitro</i>
2H7v16	UCHT1v9	K&H	alta
2H7v16	72H6	K&H	no
2H7v16	13A3	K&H	baja
2H7v16	30A1	K&H	baja
2H7v16	41D9a	K&H	baja
2H7v16	SP34v52	K&H	alta
2H7v16	40G5c	K&H	alta
2H7v16	38E4c, 38E4V1-V9	K&H	alta
2H7v16	21B2	K&H	muy baja
2H7v16	125A1	K&H	muy baja
2H7v16	21A9	K&H	alta

Figura 50

Cadena ligera, Kappa: Anticuerpo humanizado alineado con K1H3

Número de Kabat		HVR L1	
K1H3	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27	28 29 30 31 32 33 34 35 36	
2H7.v16.botón	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I S S Y L A W Y		
	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S S S V S Y M H W Y		
Número de Kabat		HVR L2	
K1H3	37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54	55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71	
2H7.v16.botón	Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F		
	Q Q K P G K A P K P L I Y A P S N L A S G V P S R F S G S G S G T D F		
Número de Kabat		HVR L3	
K1H3	72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95	96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107	
2H7.v16.botón	T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y Y S Y P F T F G Q G T K V E I K		
	T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q W S F N P F T F G Q G T K V E I K		SEQ ID NO: 267

Cadena pesada: Anticuerpo humanizado alineado con K1H3

Número de Kabat		HVR H1	
K1H3	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35	36 37 38 39 40 41 42 43 44	
2H7.v16.botón	E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S . . W V R Q A P G K G		
	E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T S Y N M H . . W V R Q A P G K G		
Número de Kabat		HVR H2	
K1H3	45 46 47 48 49 50 51 52 a 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 a b c 83 84		
2H7.v16.botón	L E W V G A I S S . . S G S S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A		
	L E W V G A I Y P . . G N G D T S Y N Q K F K G R F T I S Y D K S K N T L Y L Q M N S L R A		
Número de Kabat		HVR H3	
K1H3	85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 a b c d e 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113		
2H7.v16.botón	E D T A V Y Y C A R A R V V Y Y S N S Y W Y F D Y W G Q G T L V T V S S		
	E D T A V Y Y C A R V V Y Y S N S Y W Y F D V W G Q G T L V T V S S		SEQ ID NO: 266

Figura 52A

Análisis de CC para TDB para CD20

Análisis SEC: Sin agregación detectable

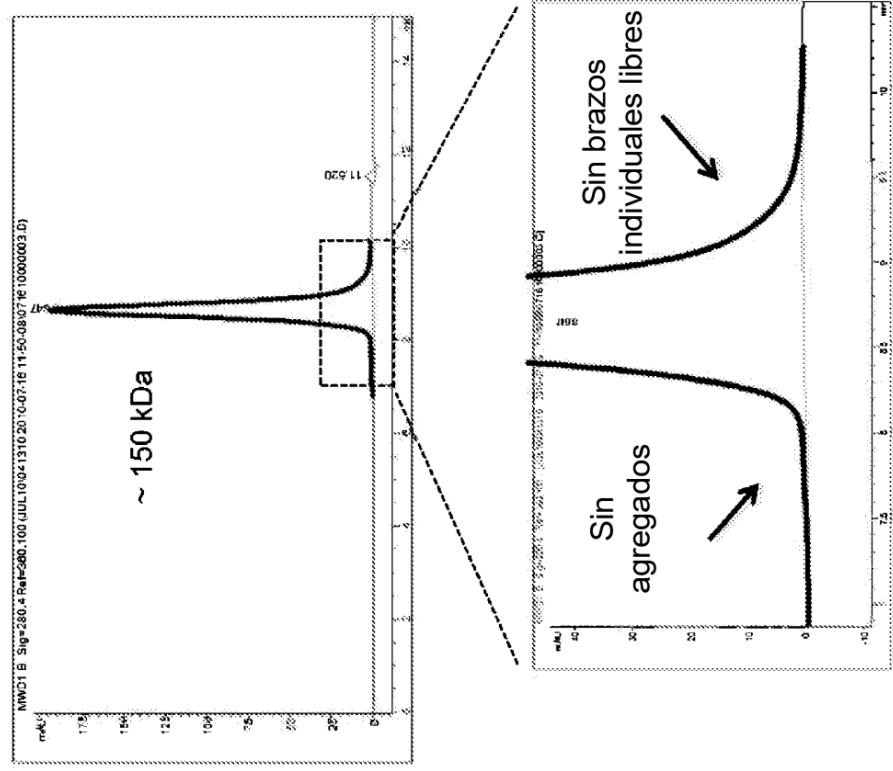
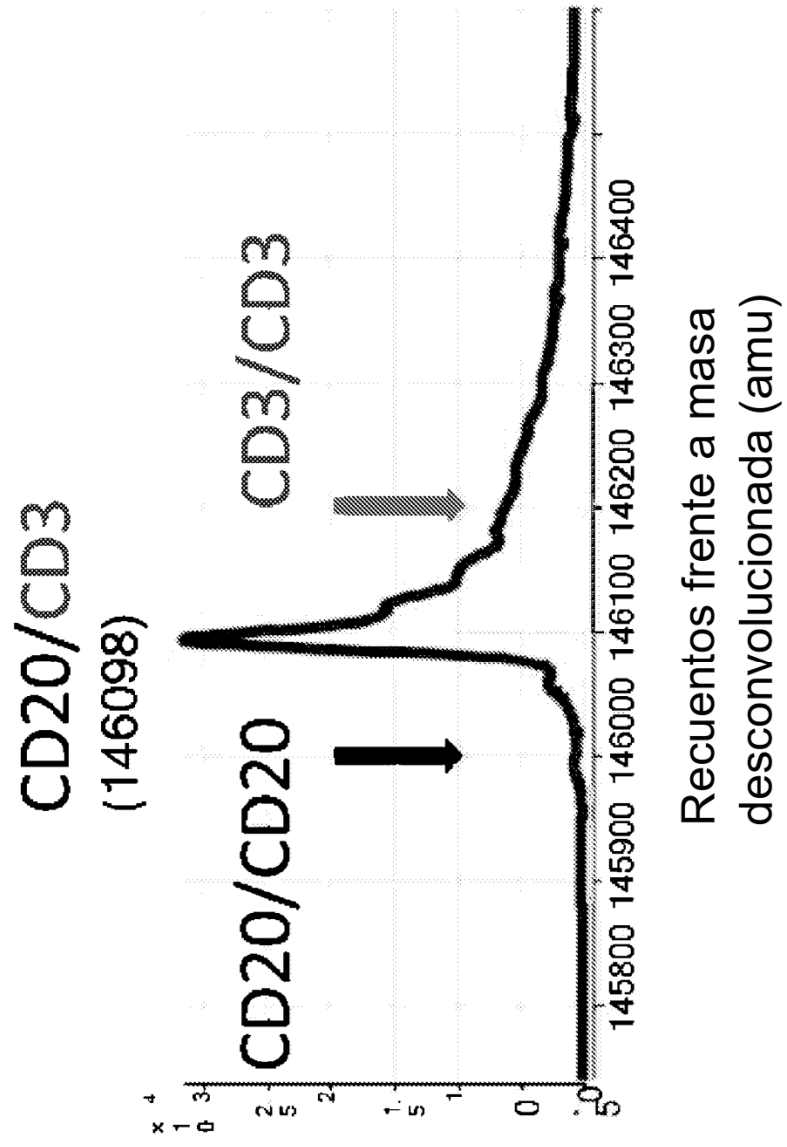


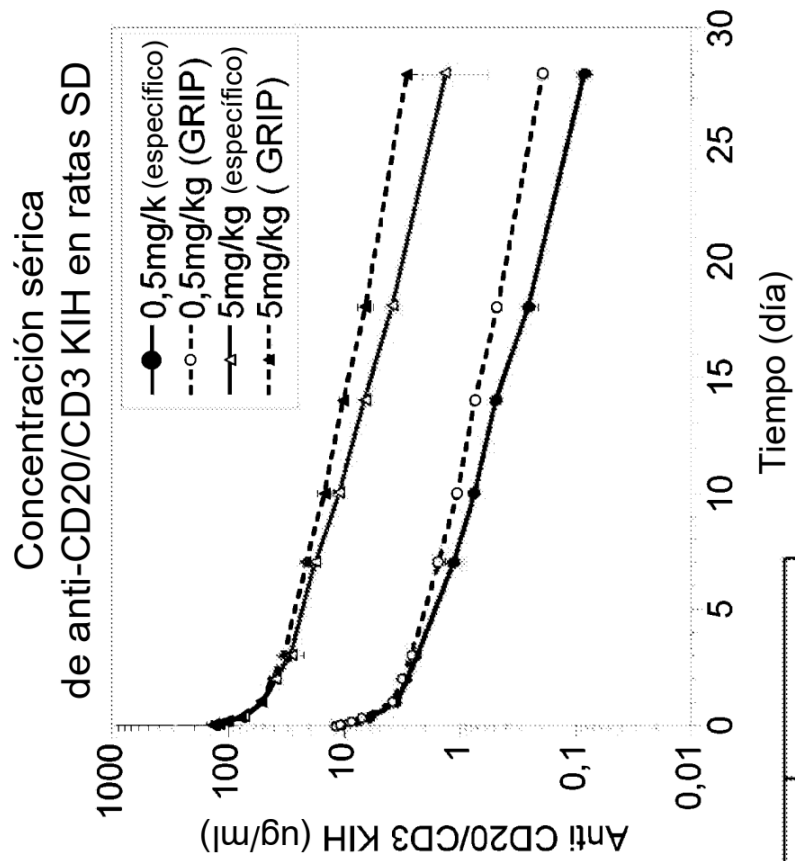
Figura 52B

Análisis EM: Solo se detecta anticuerpo heterodimérico (botón-ojal)



Figuras 53A-53B

A

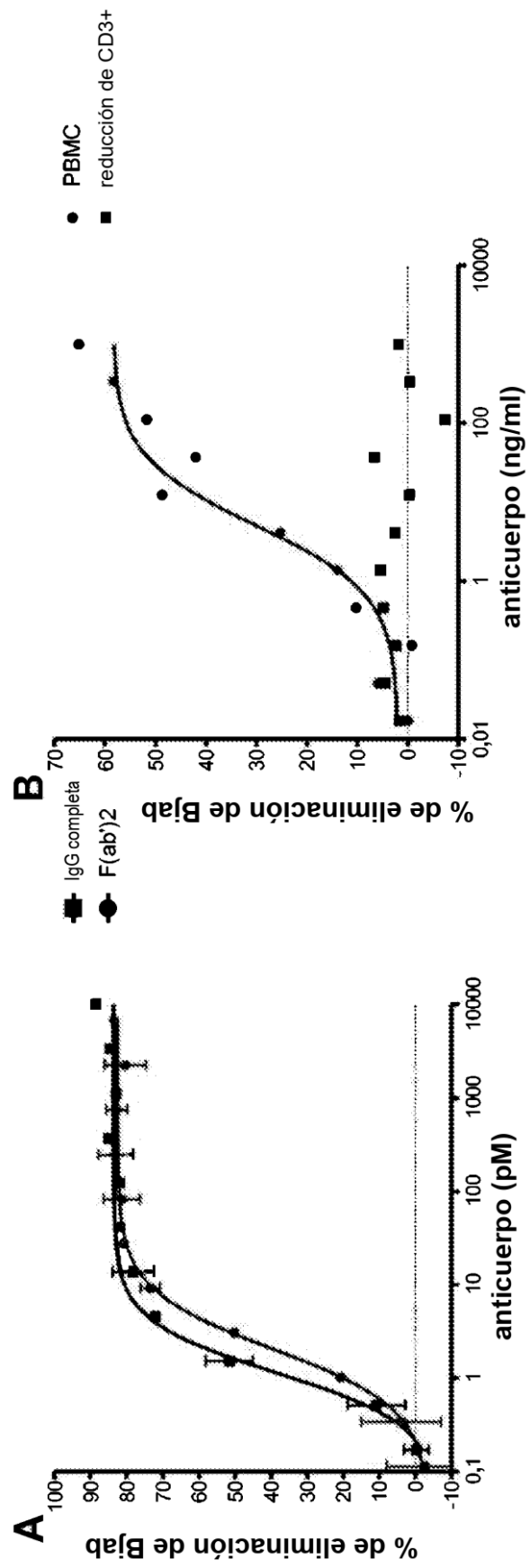


Análisis PK de rata para TDB
para CD20

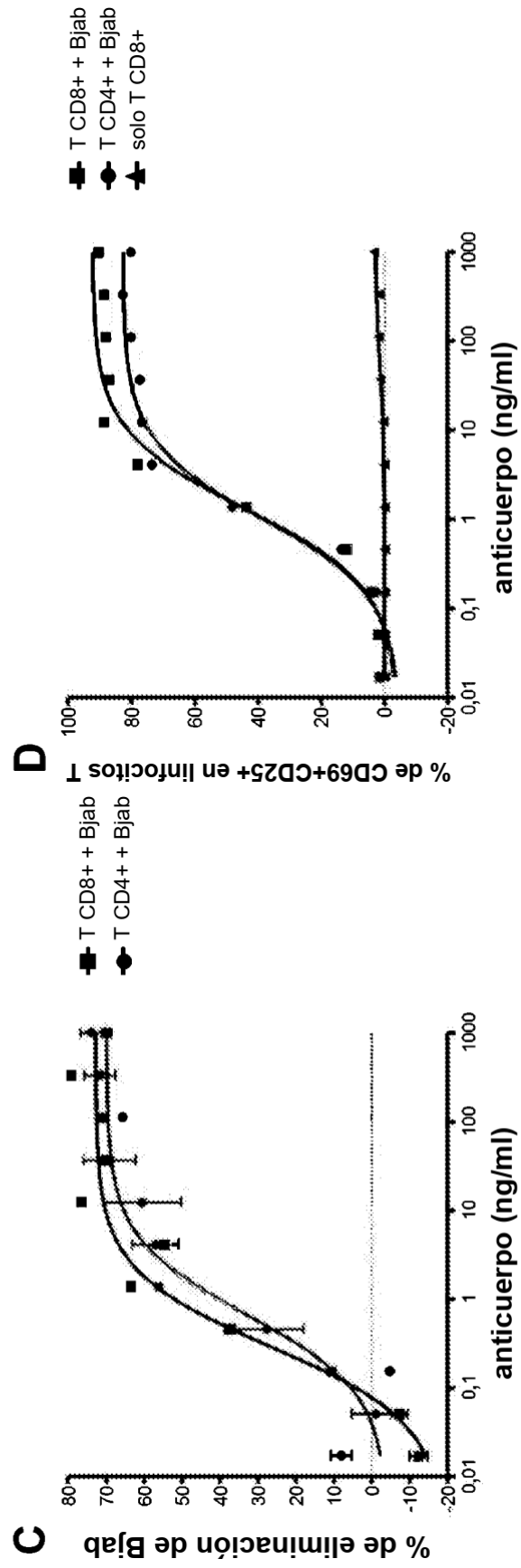
B

Dosis	Ensayo	Cmáx (ug/ml)	CL (ml/día/kg)	Beta HL (día)
0,5	GRIP	12,0 ± 0,600	14,1 ± 0,255	6,08 ± 0,116
5	GRIP	139 ± 20,6	10,5 ± 0,942	6,40 ± 0,572
0,5	Específico	11,9 ± 0,638	18,5 ± 0,529	4,62 ± 0,185
5	Específico	137 ± 18,2	13,3 ± 1,14	4,98 ± 0,400

Figuras 54A-54B



Figuras 54C-54D



Figuras 54E-54F

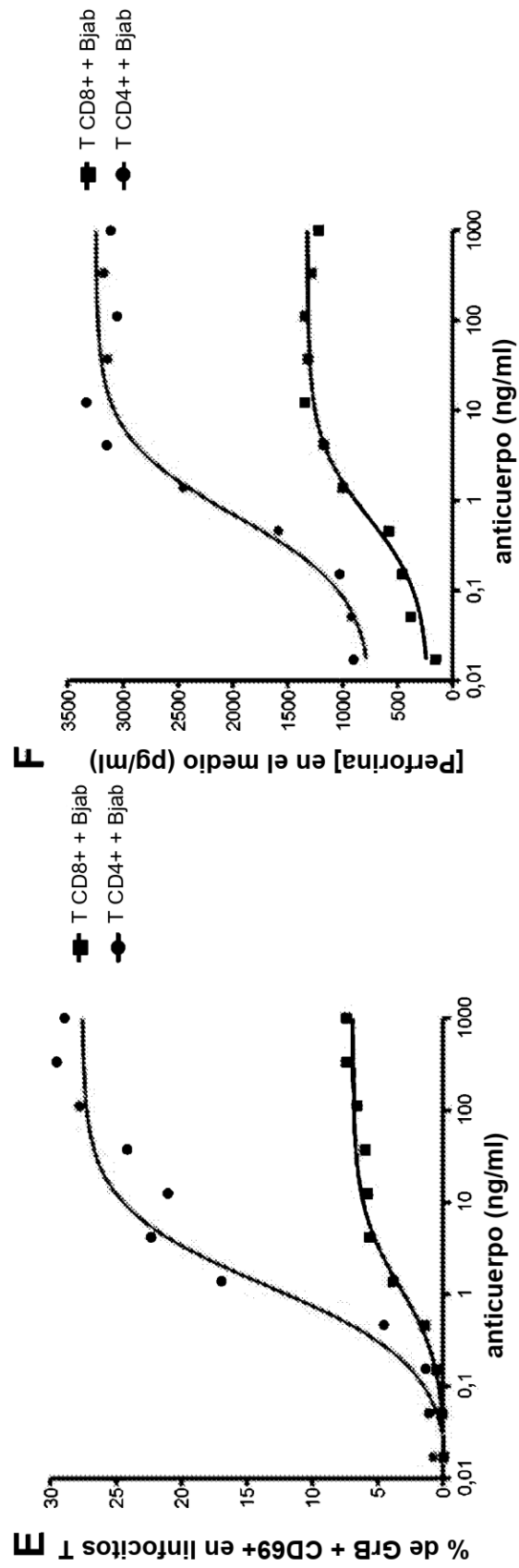


Figura 55

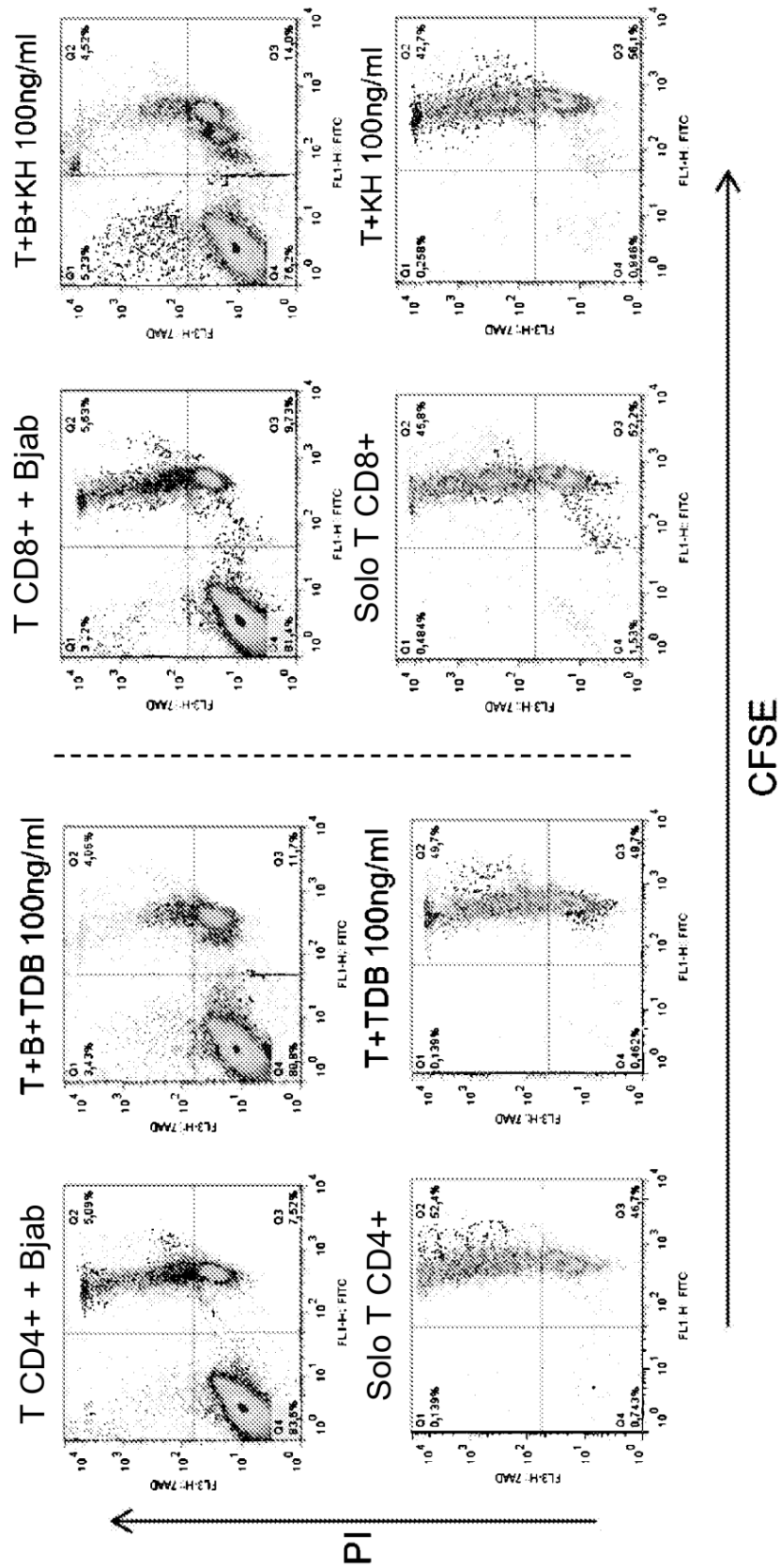
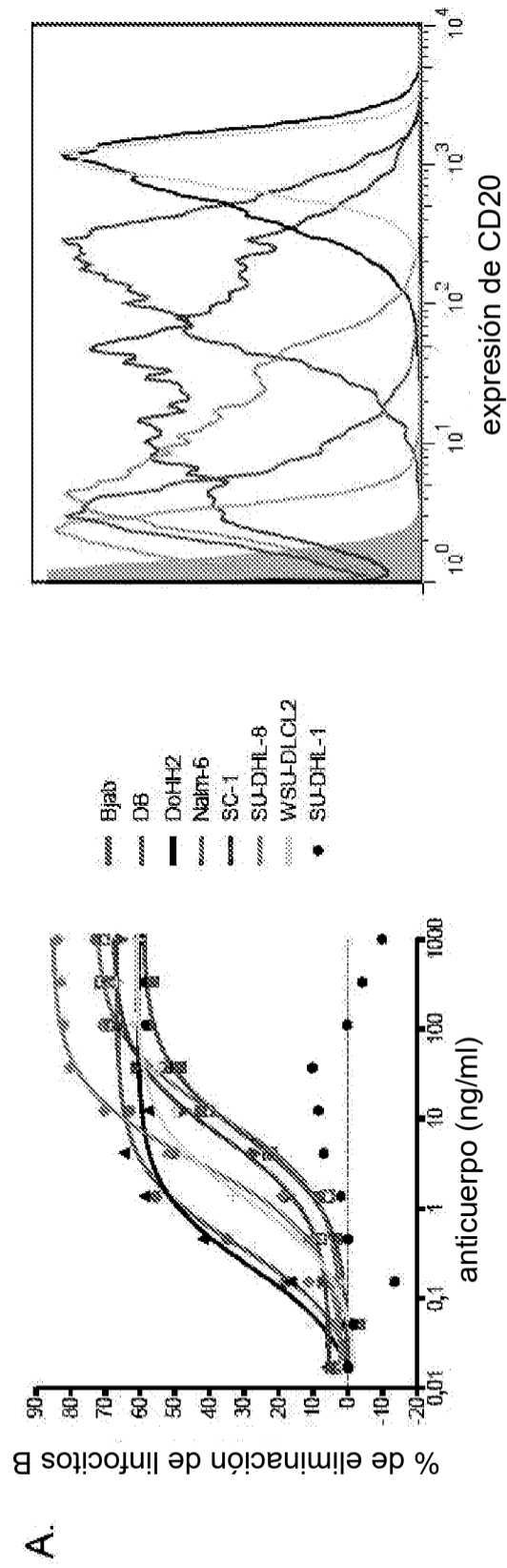
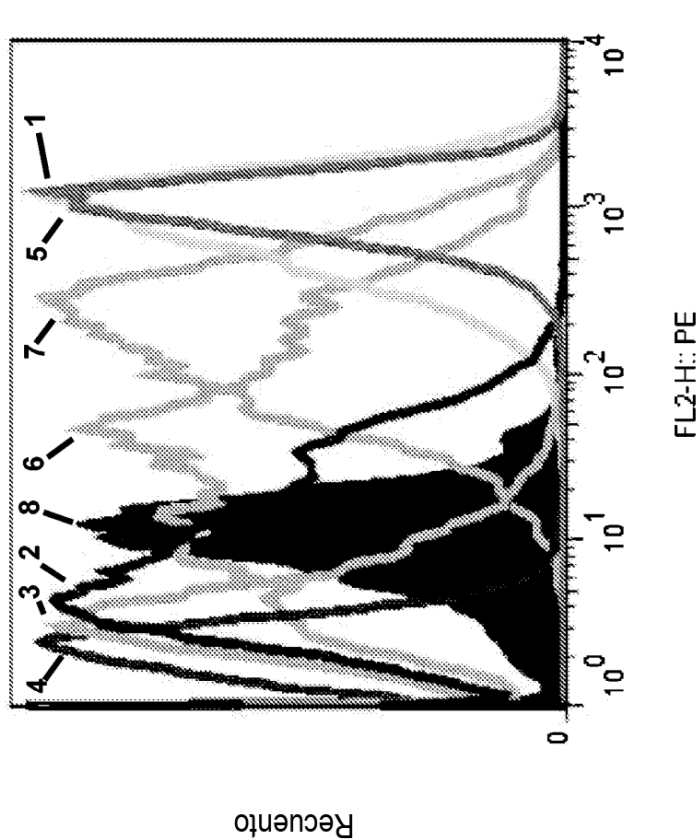


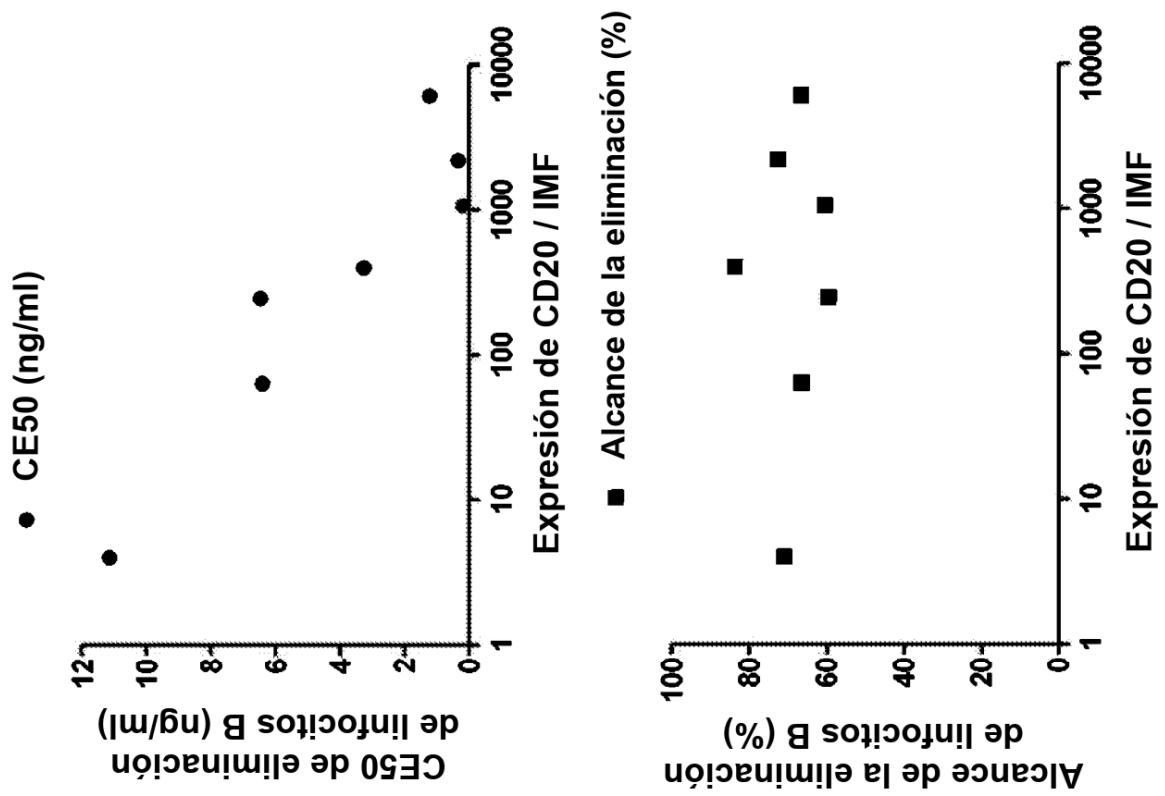
Figura 56A





	Nombre de la muestra	Media, FL2-H
1	LS20110307-WSU-DLCL2-CD20PE.001	1081
2	LS20110307-SU-DHL-8-CD20PE.001	17,4
3	LS20110307-SC-1-CD20PE.001	6,03
4	LS20110307-Nalm-6-CD20PE.001	2,73
5	LS20110307-DoHH2-CD20PE.001	942
6	LS20110307-DB-CD20PE.001	107
7	LS20110307-Bjab-CD20PE.001	284
8	LS20110307-PBMC-CD20PE.001	16,9

Figura 56C



Figuras 56D-56E

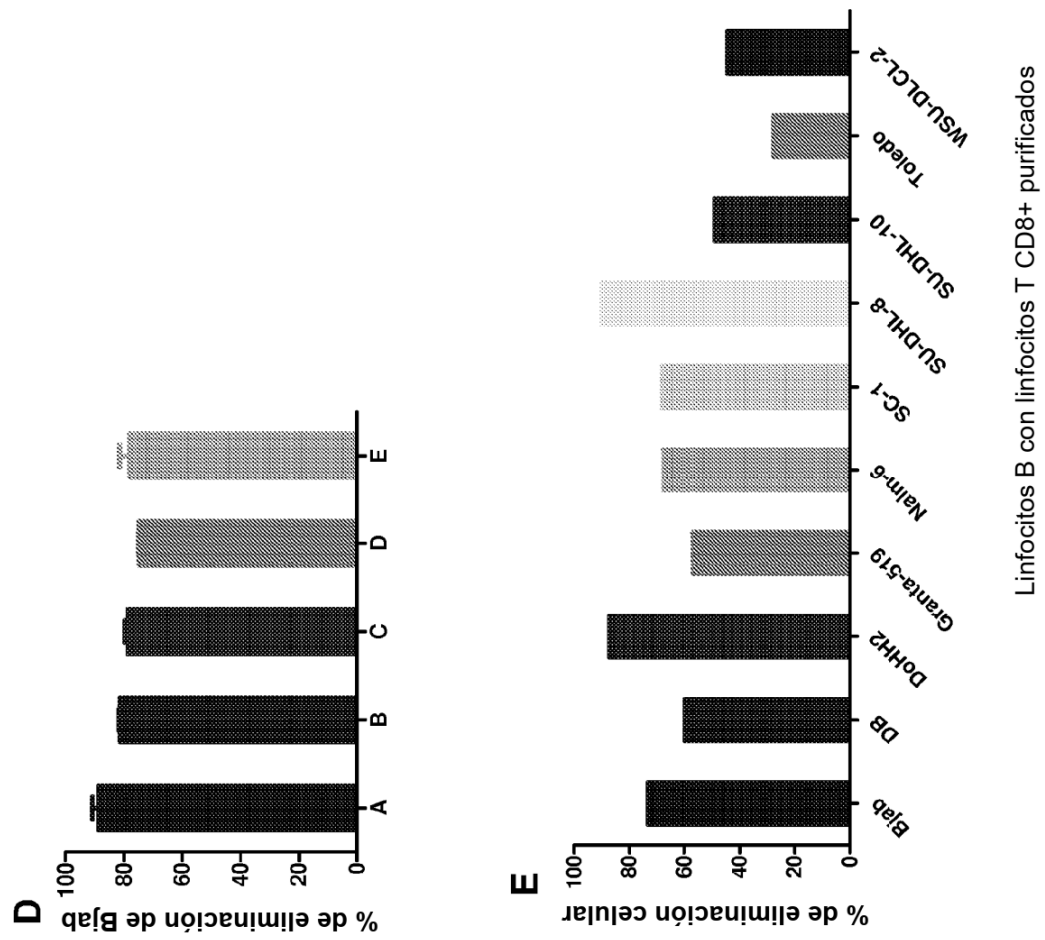
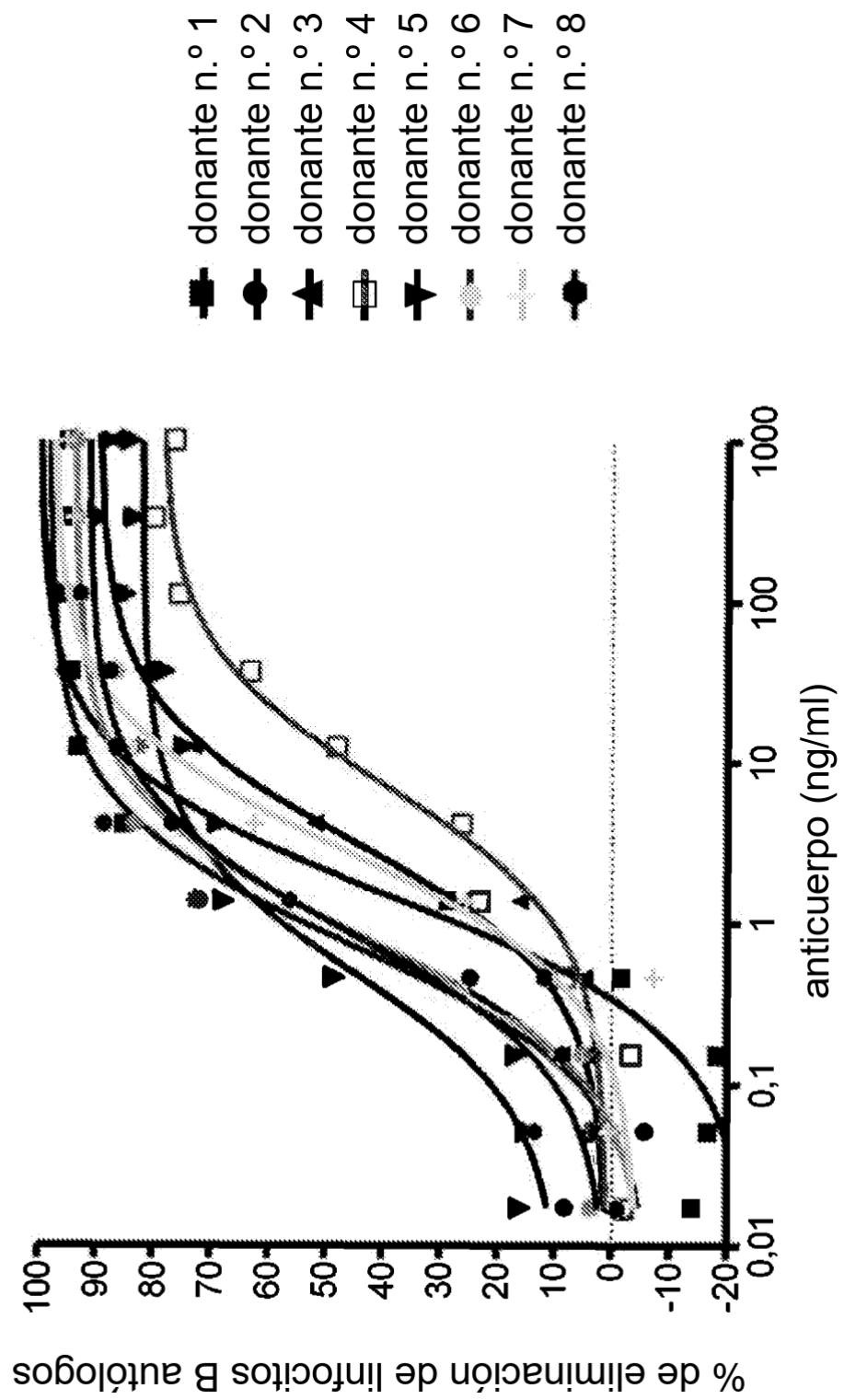


Figura 56F



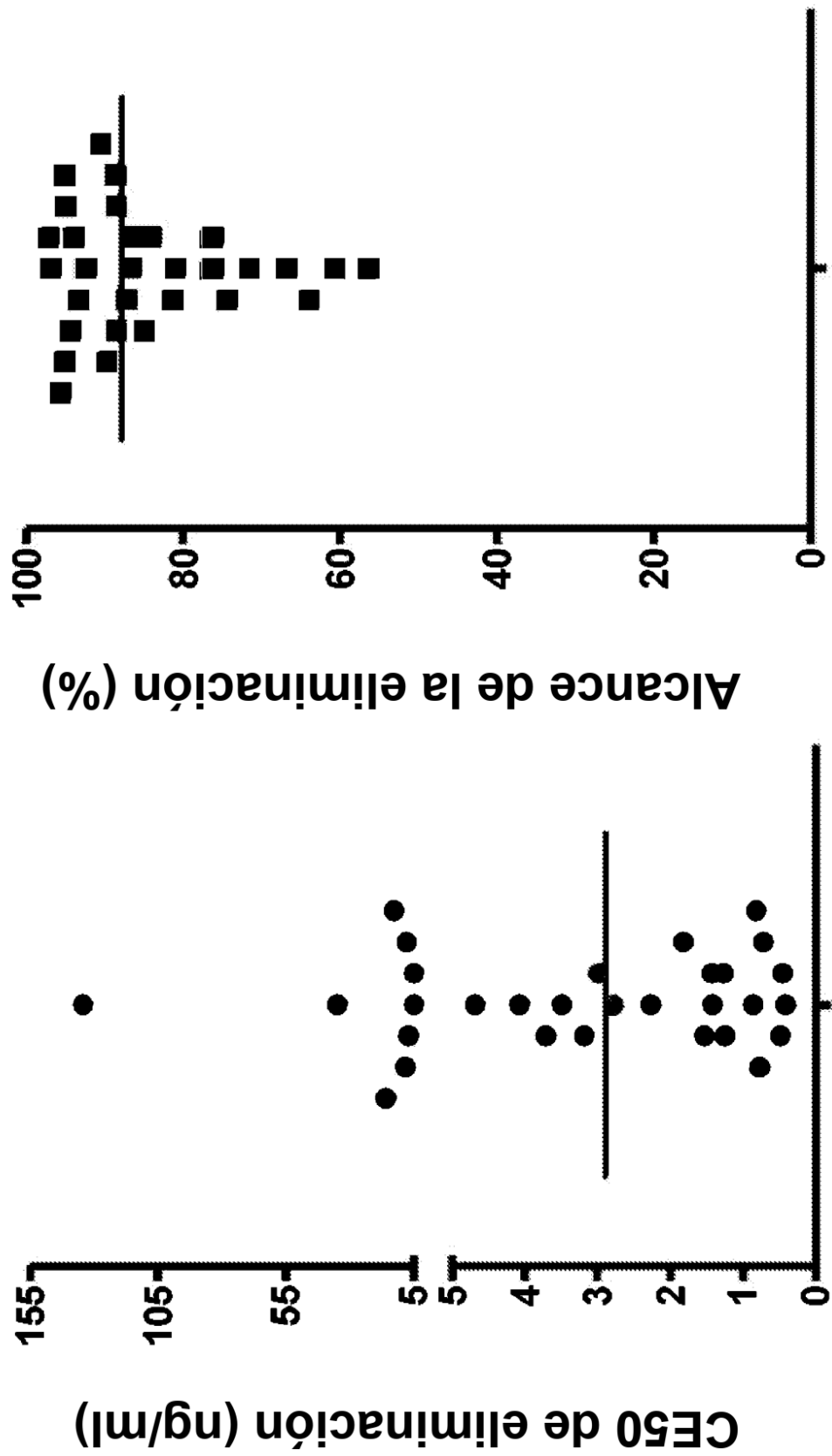


Figura 56G

Figura 56H

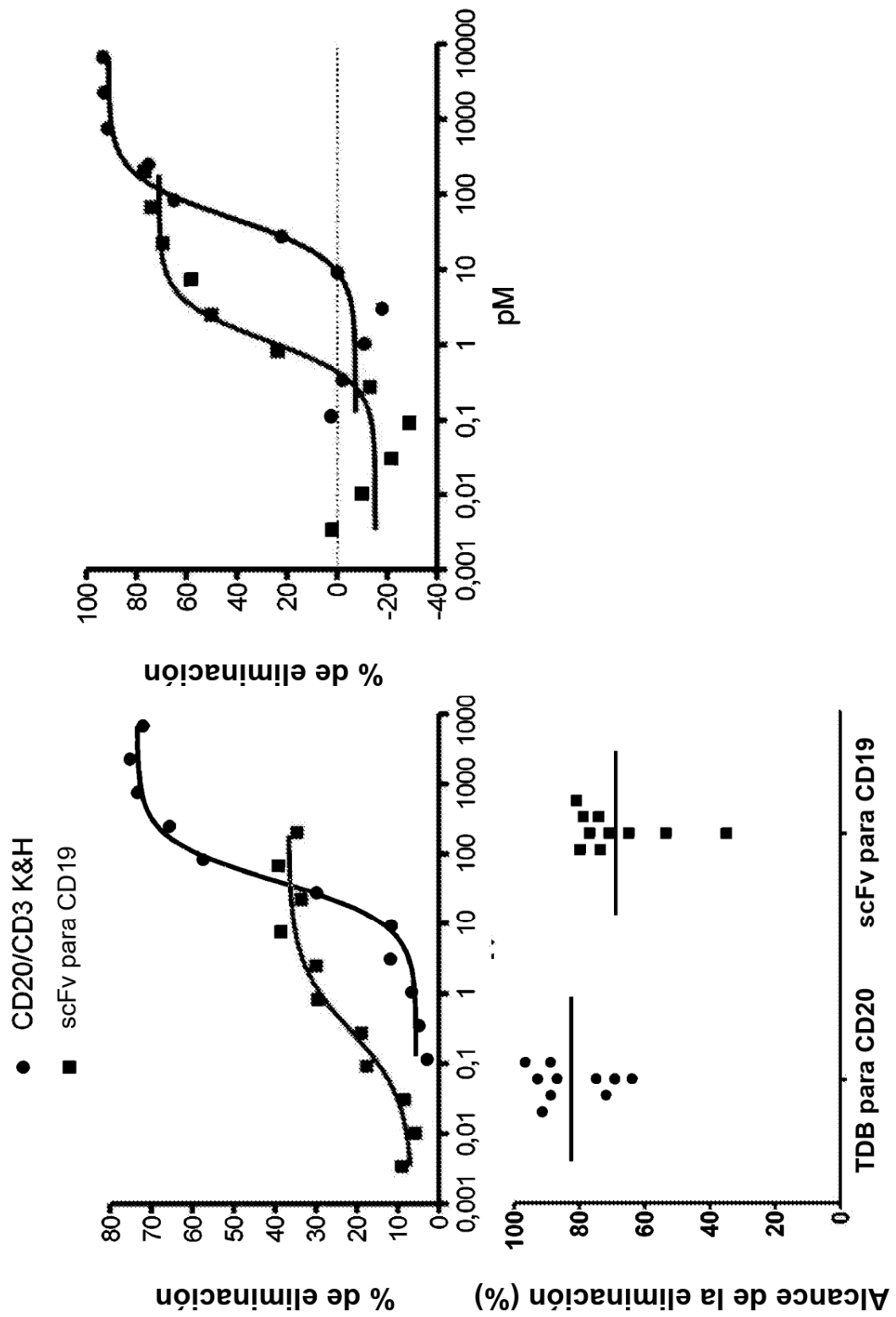


Figura 56I

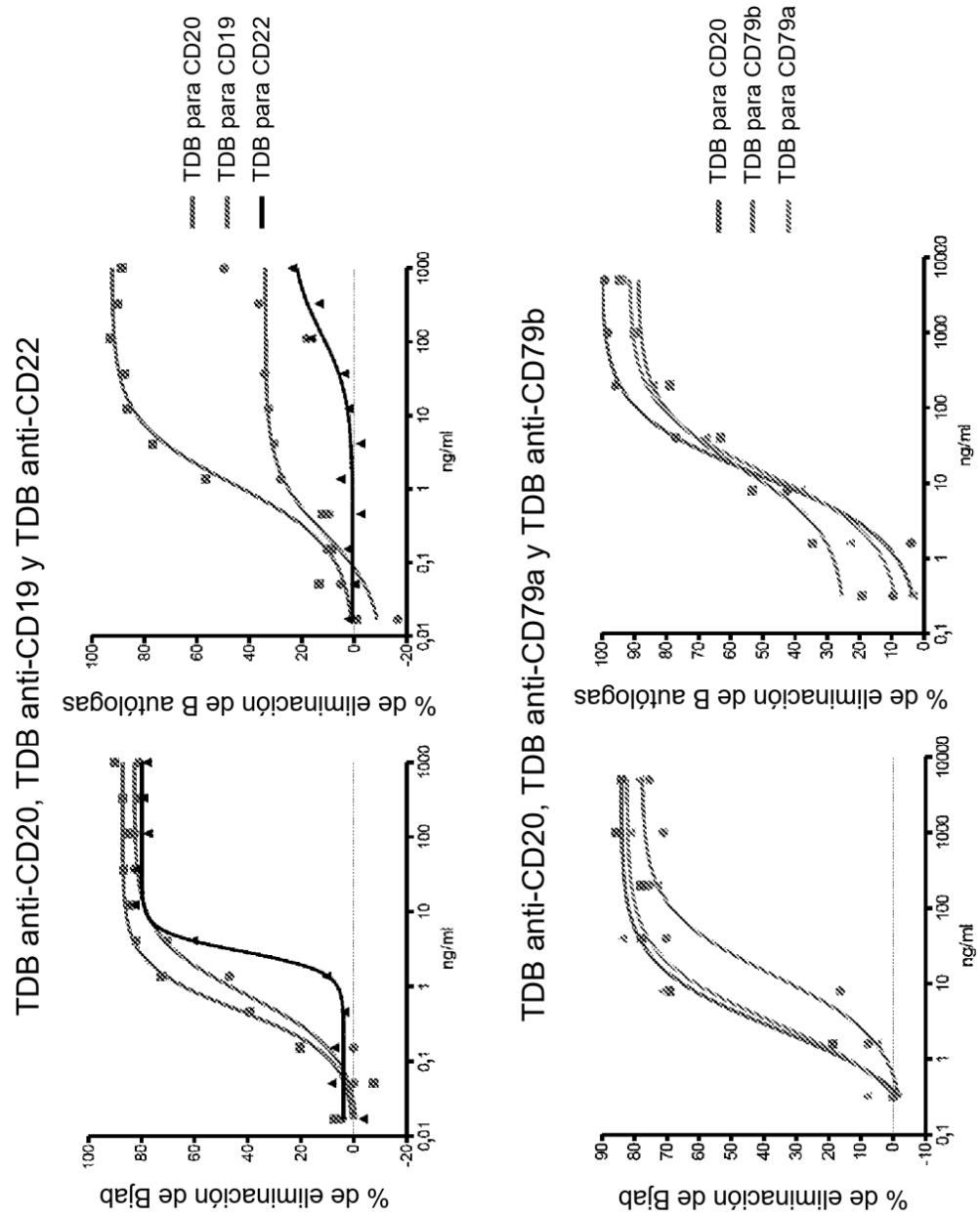
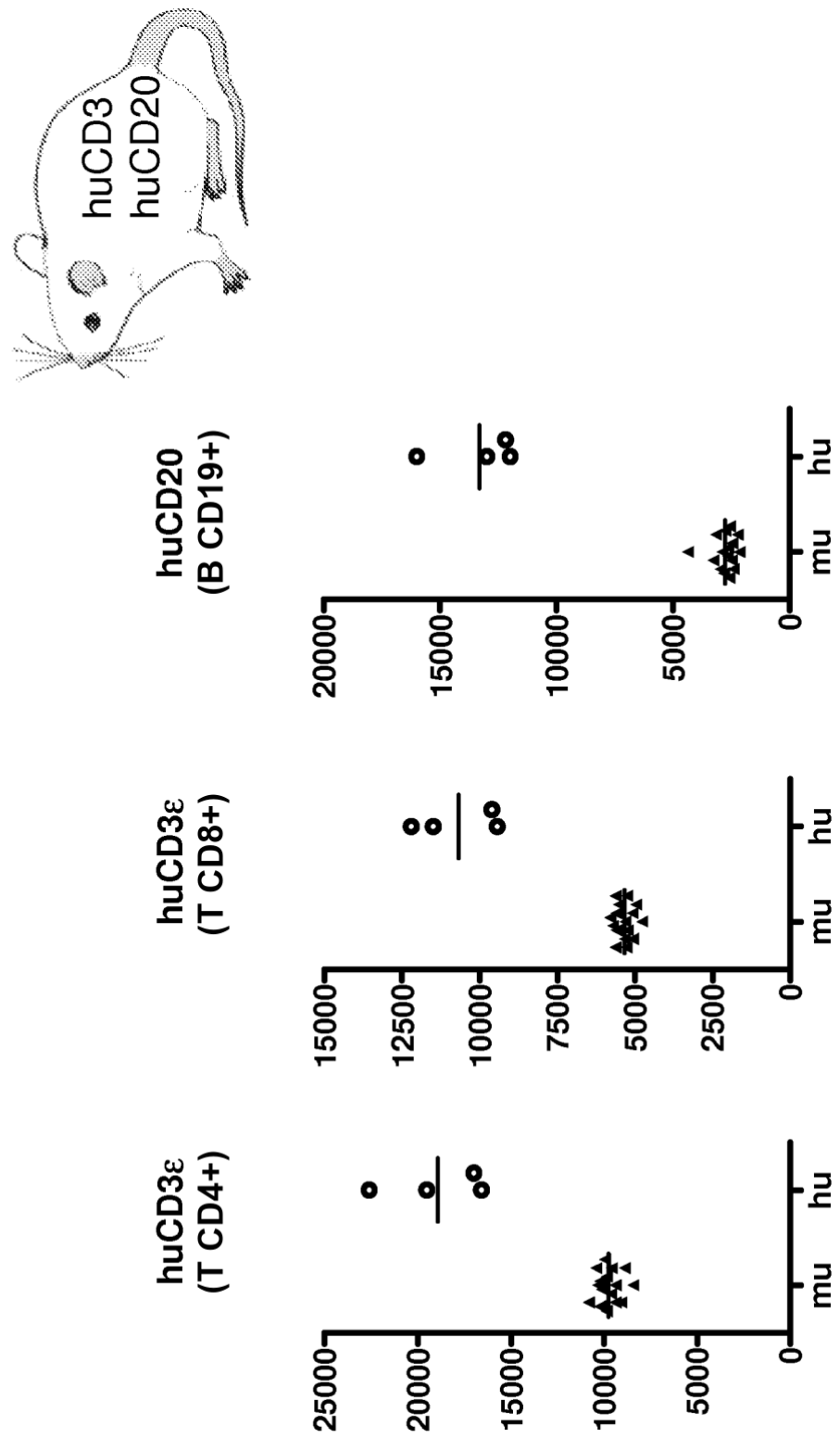


Figura 57A



Figuras 57B-57C

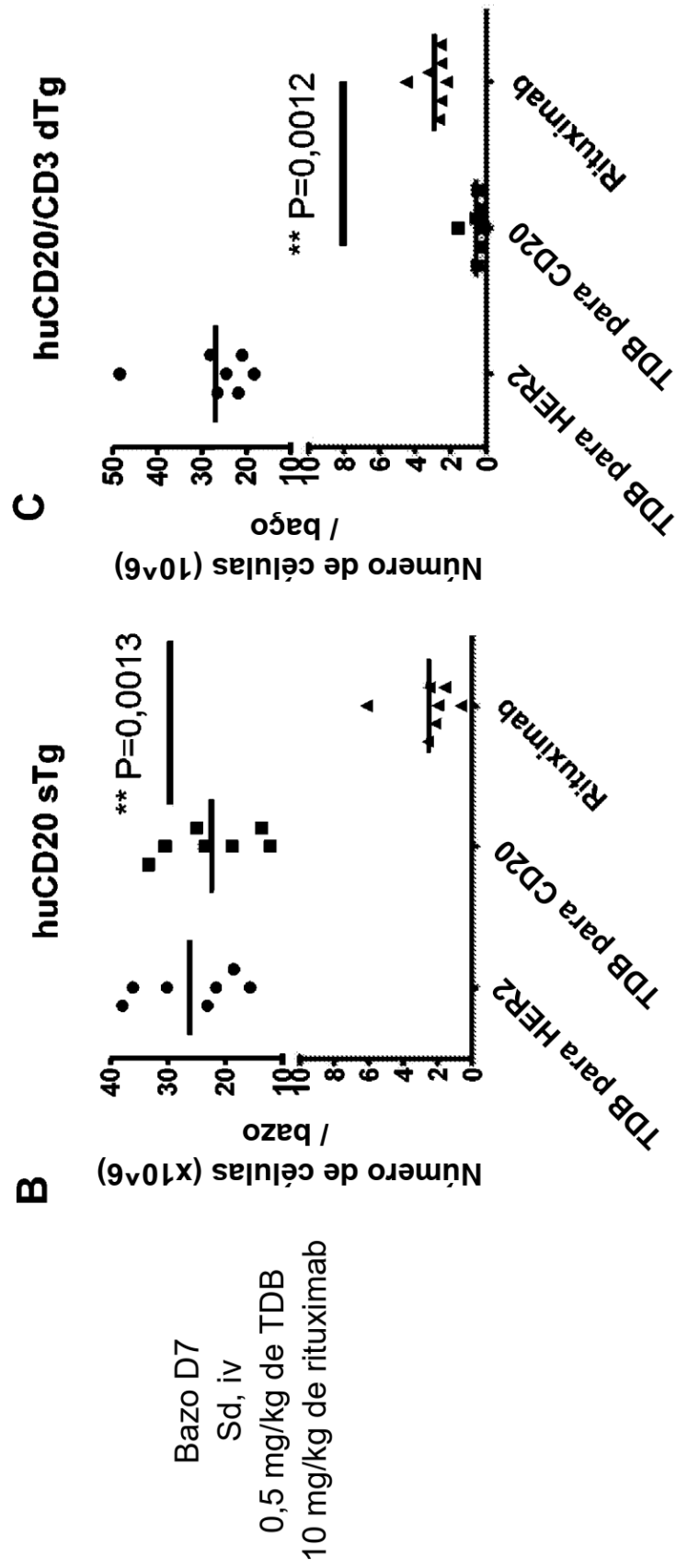


Figura 58A

Respuesta a la dosis: linfocitos B en sangre

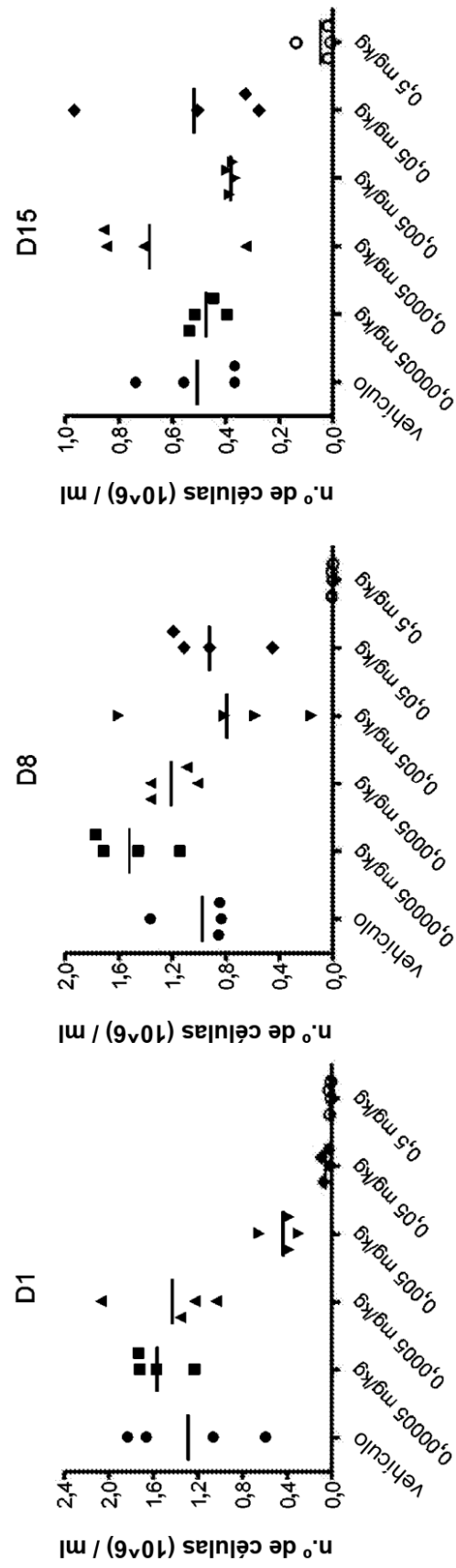
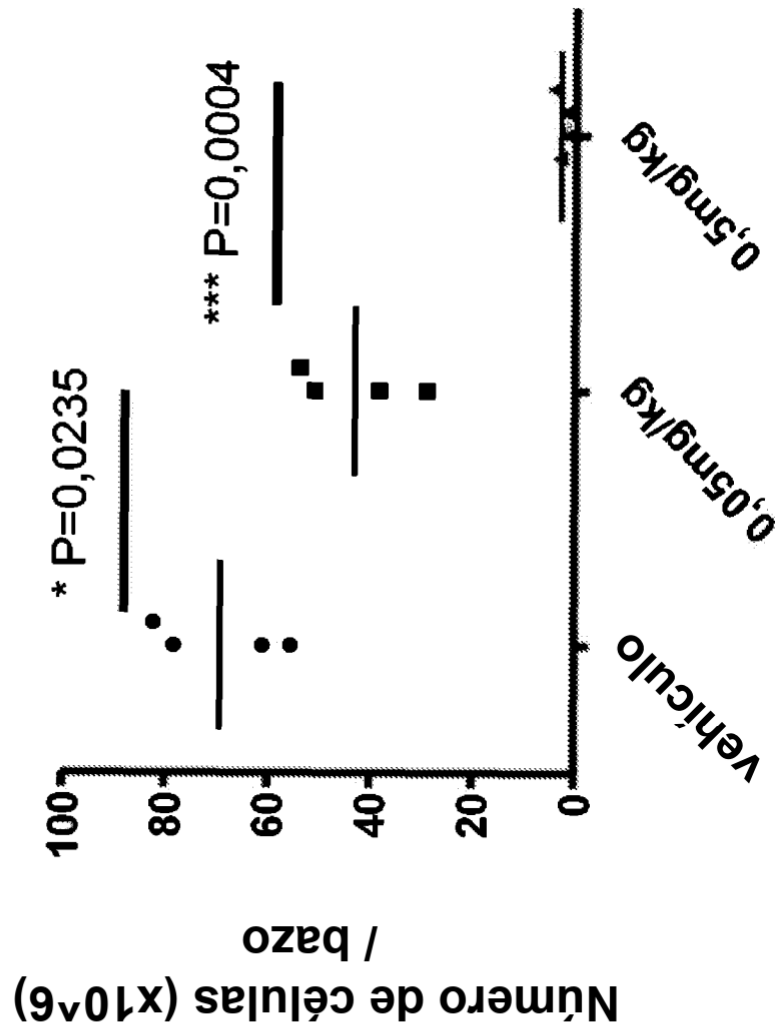


Figura 58B



Figuras 58C-58D

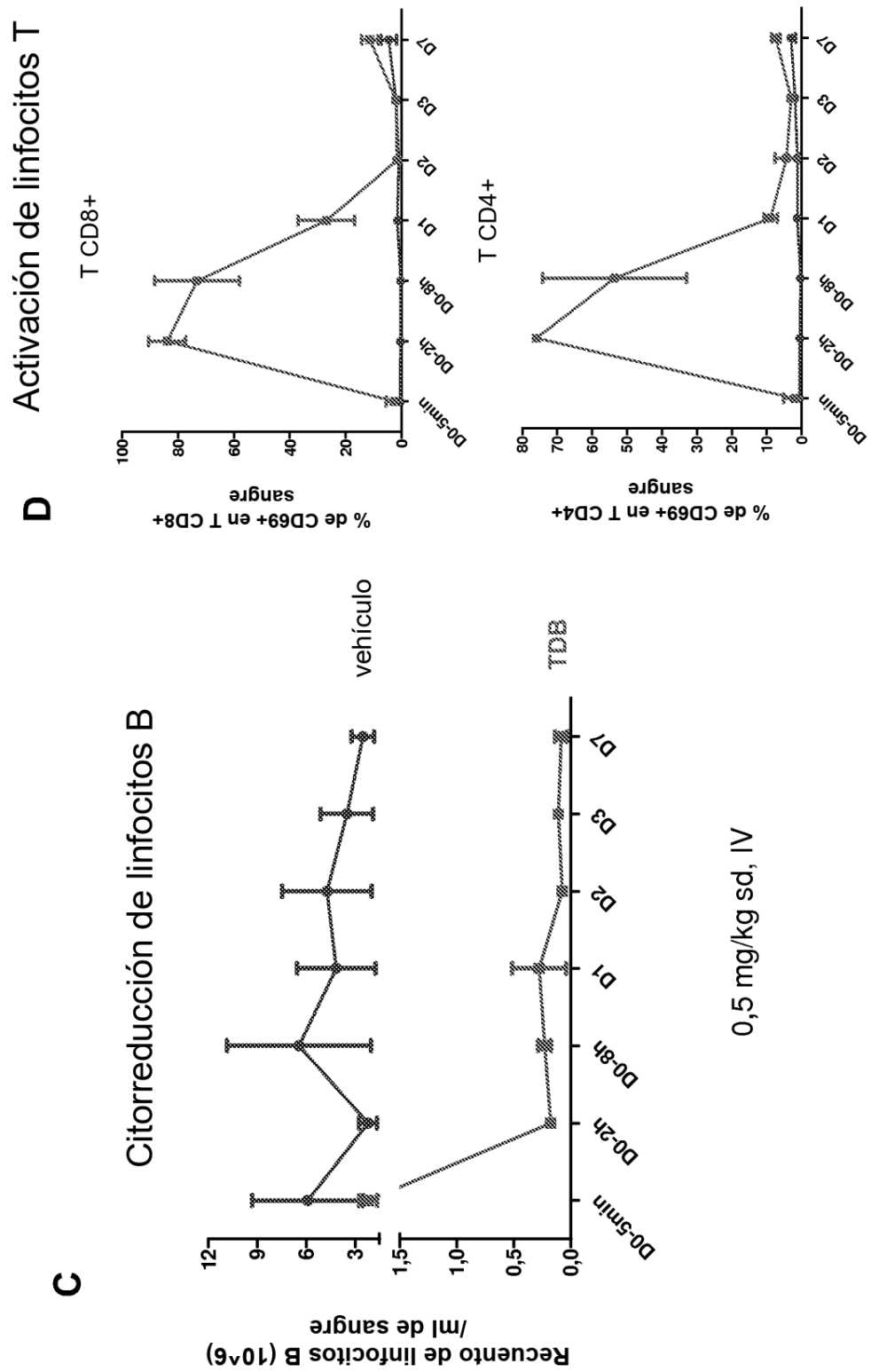
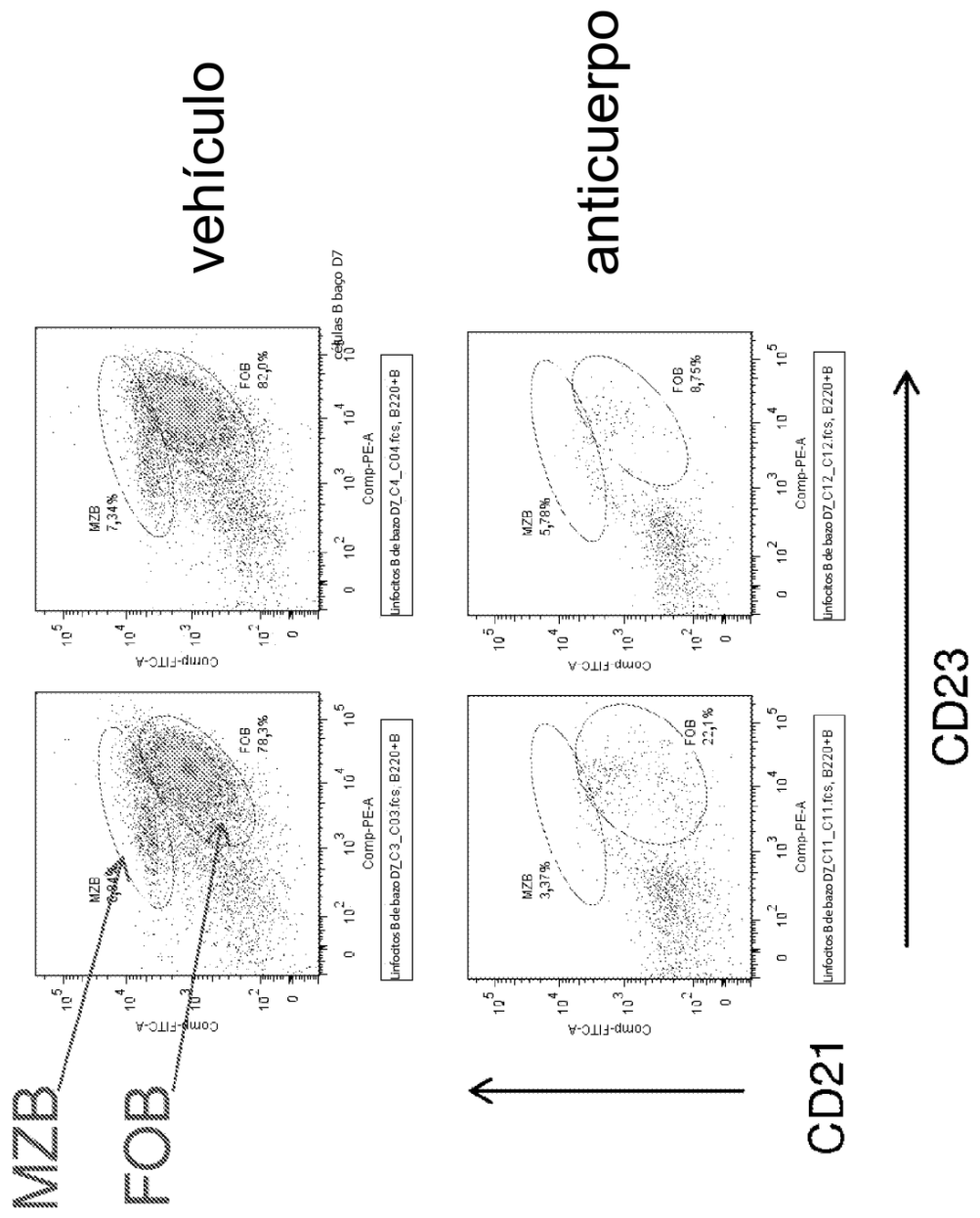
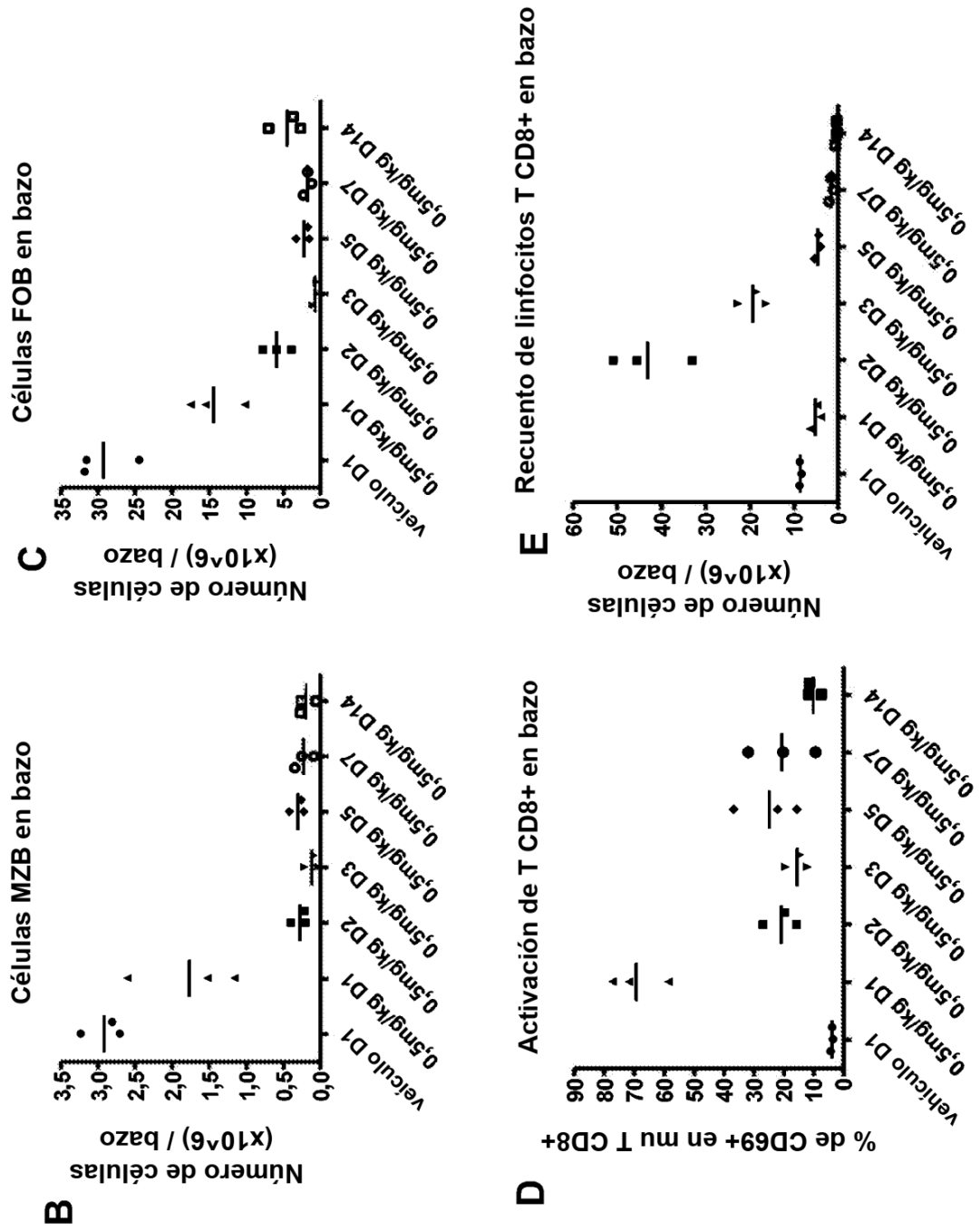


Figura 59A

TDB



Figuras 59B-59E



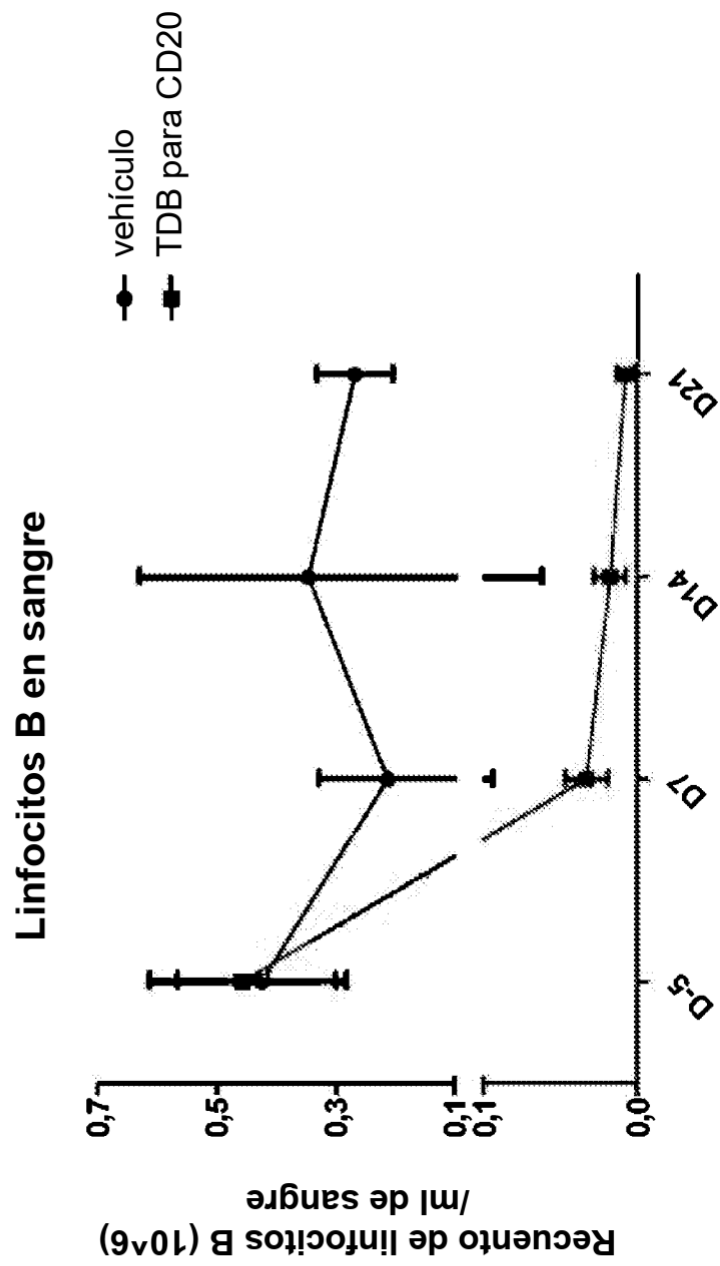


Figura 60A

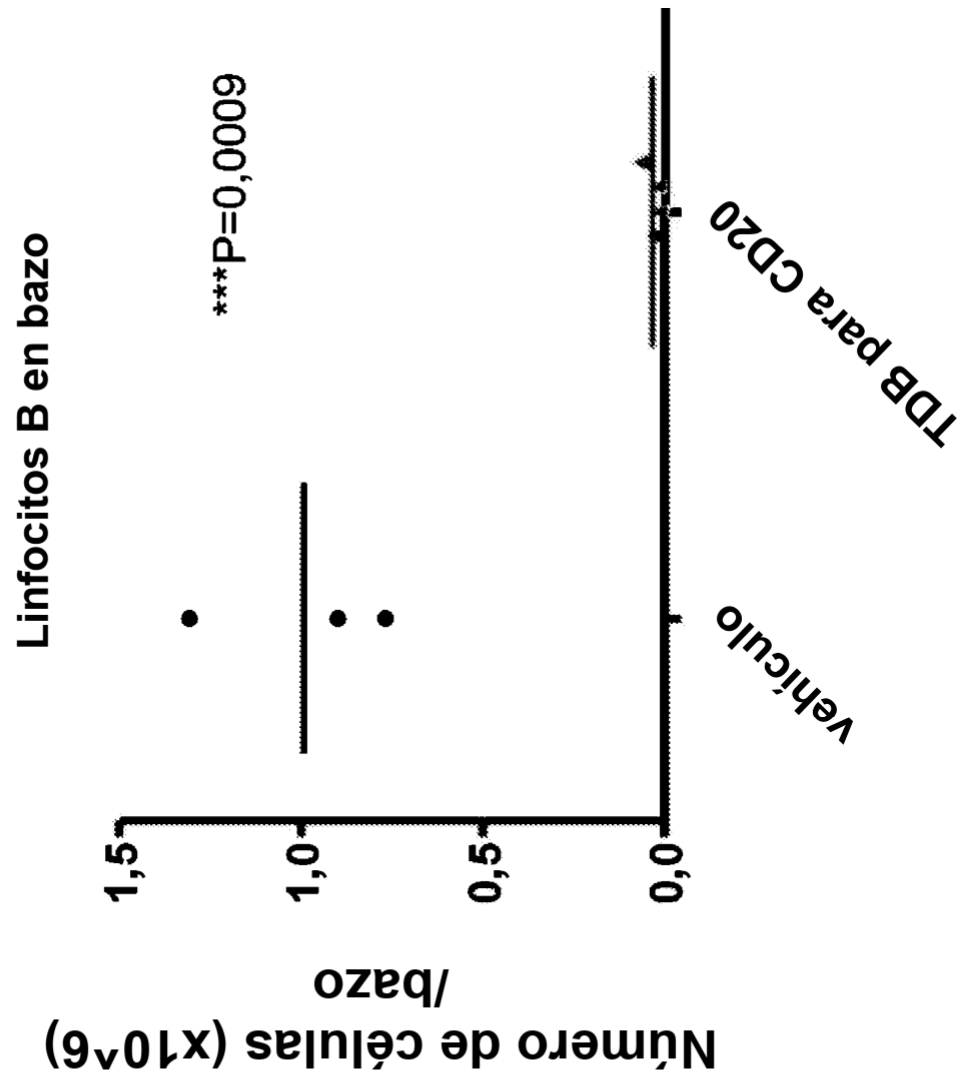
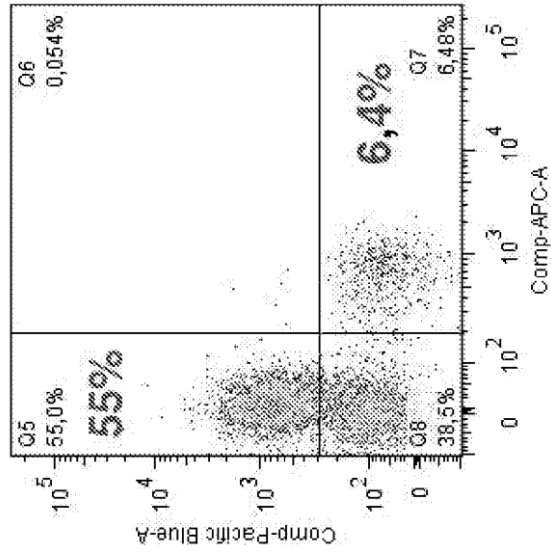


Figura 60B

Figura 60C

Control
baja relación T:B



Linfocitos T
Proliferación
después
del tratamiento
(D7, sangre)

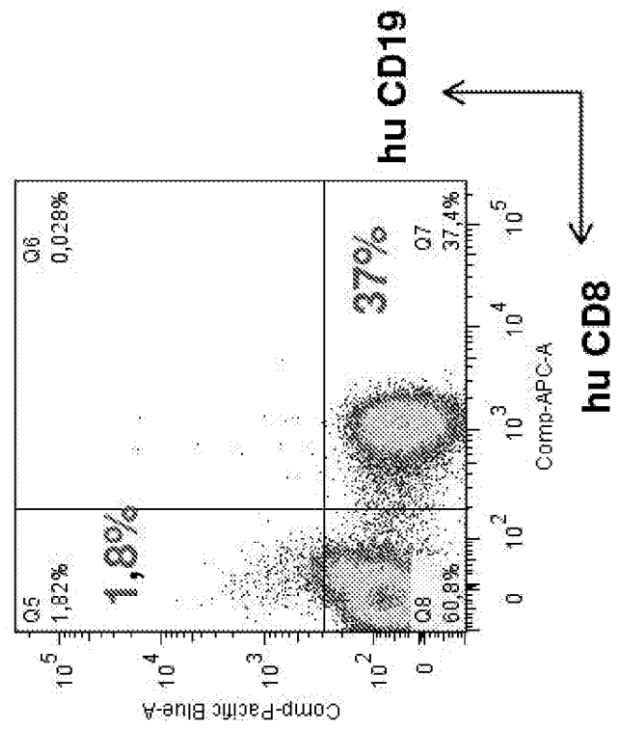
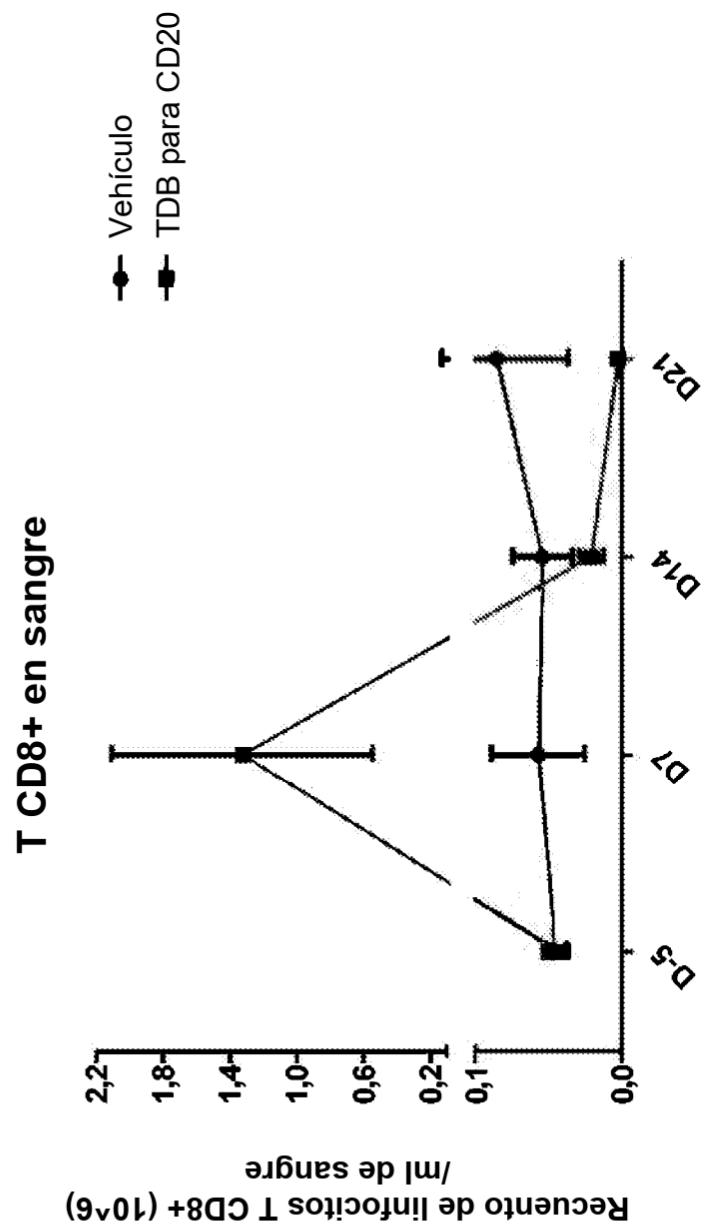


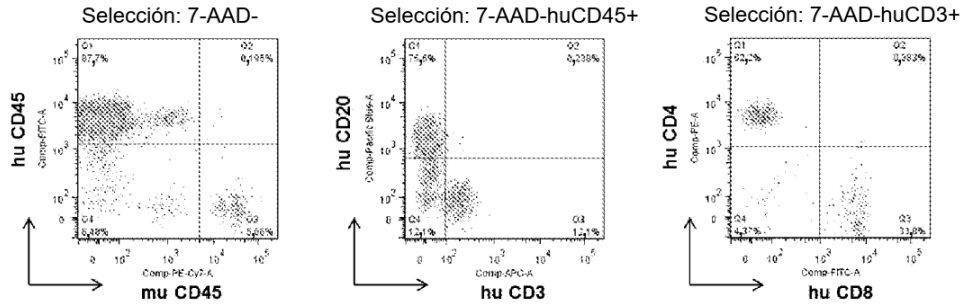
Figura 60D



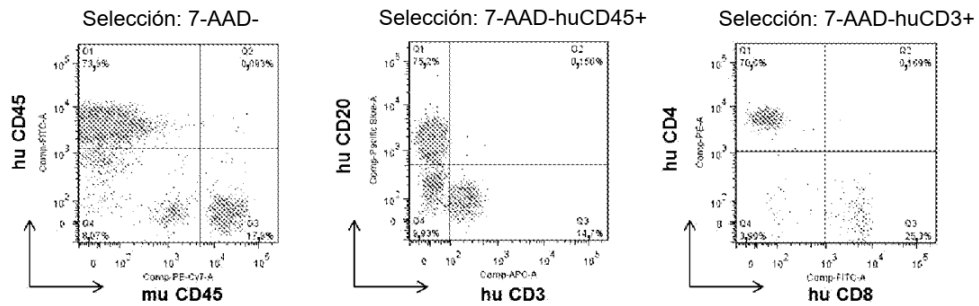
Figuras 60E-60F

E

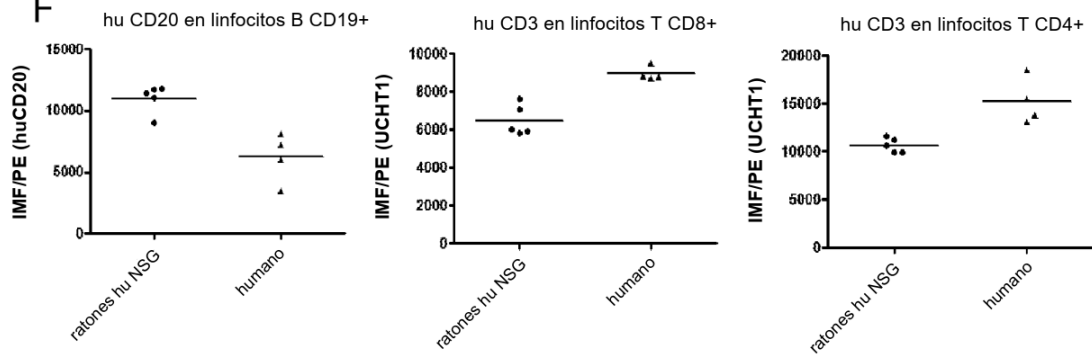
N.º 43: 76% de hu B CD20+, 4,0% de hu T CD8+ y 7,5% de hu T CD4+ de células huCD45+.



N.º 46: 75% de hu B CD20+, 3,7% de hu T CD8+ y 10% de hu T CD4+ de células huCD45+.



F



Figuras 61A-61B

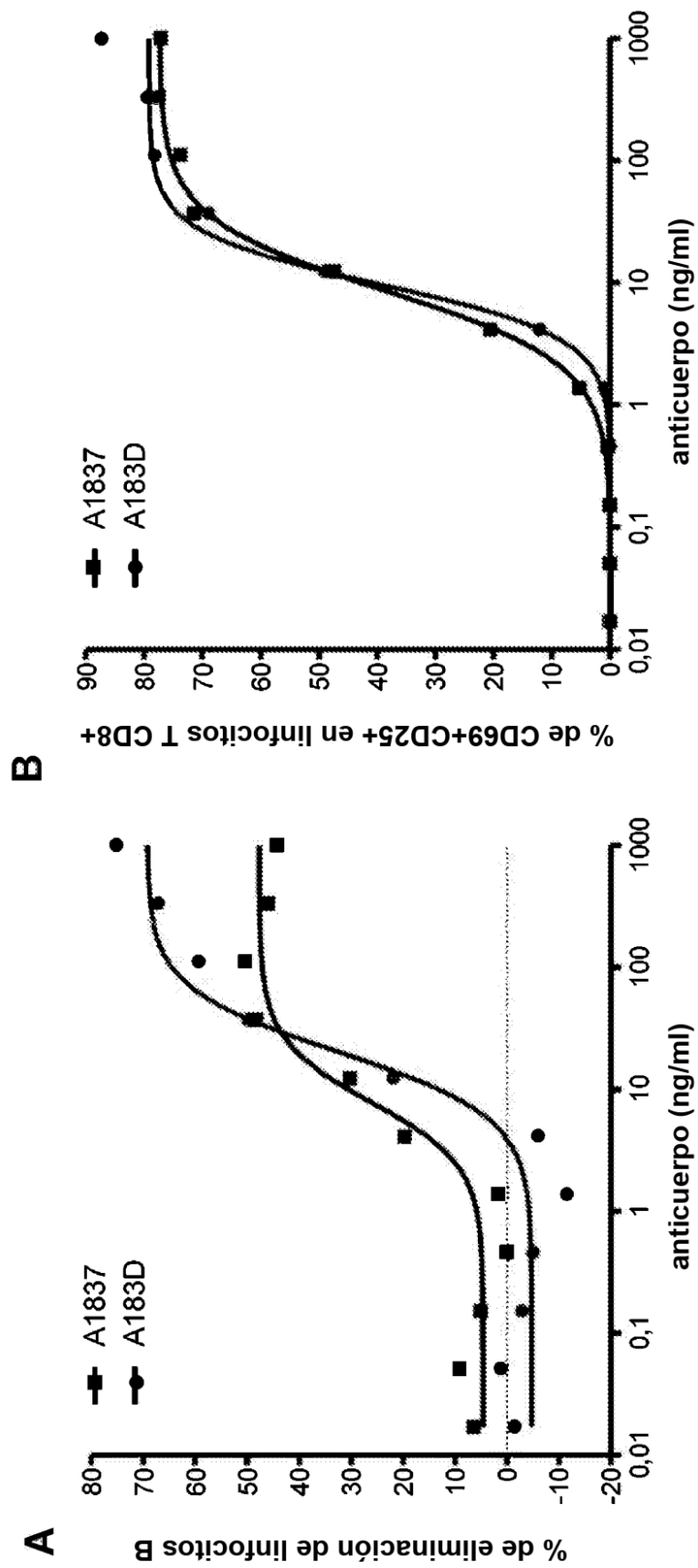


Figura 61C

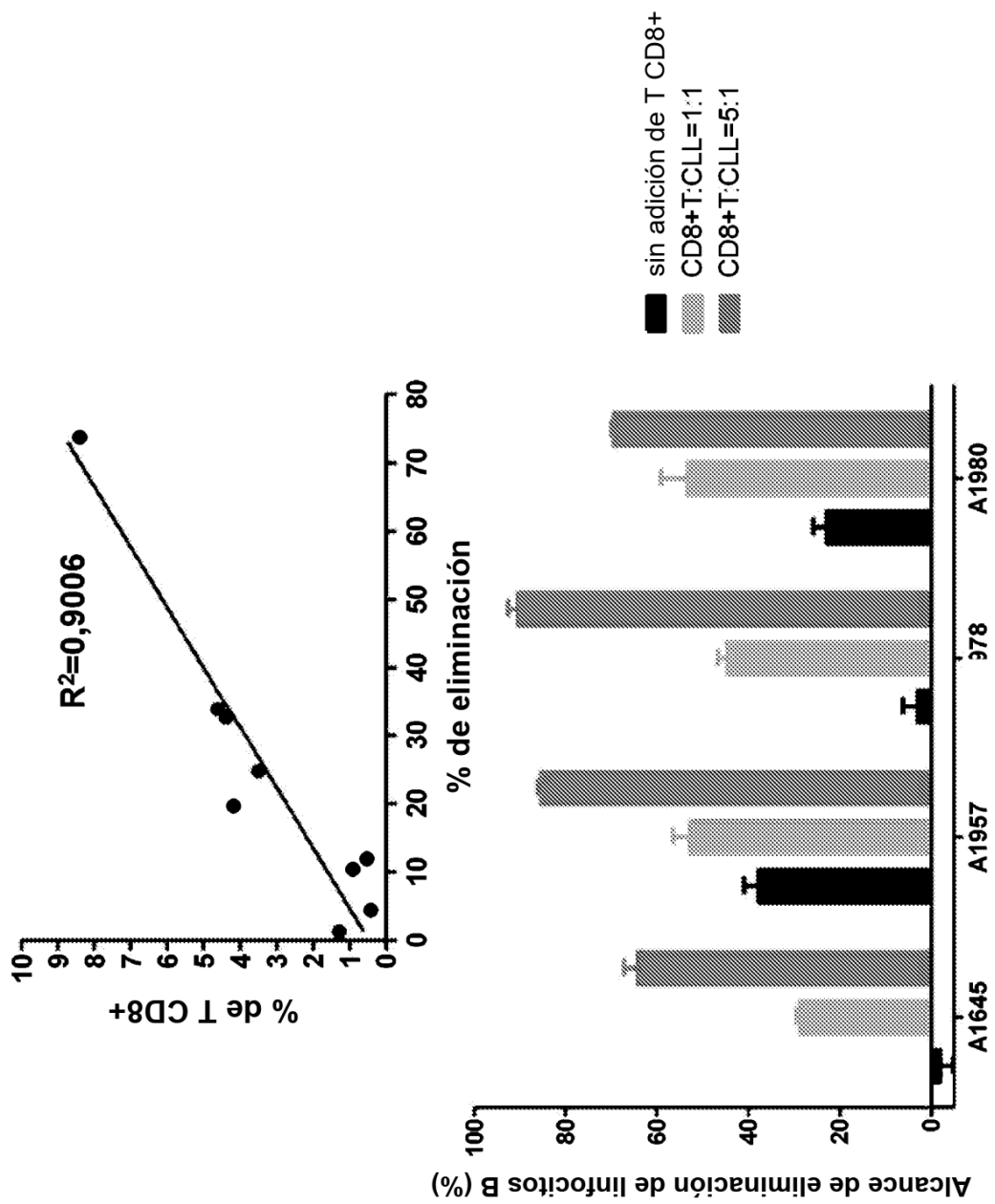


Figura 62A

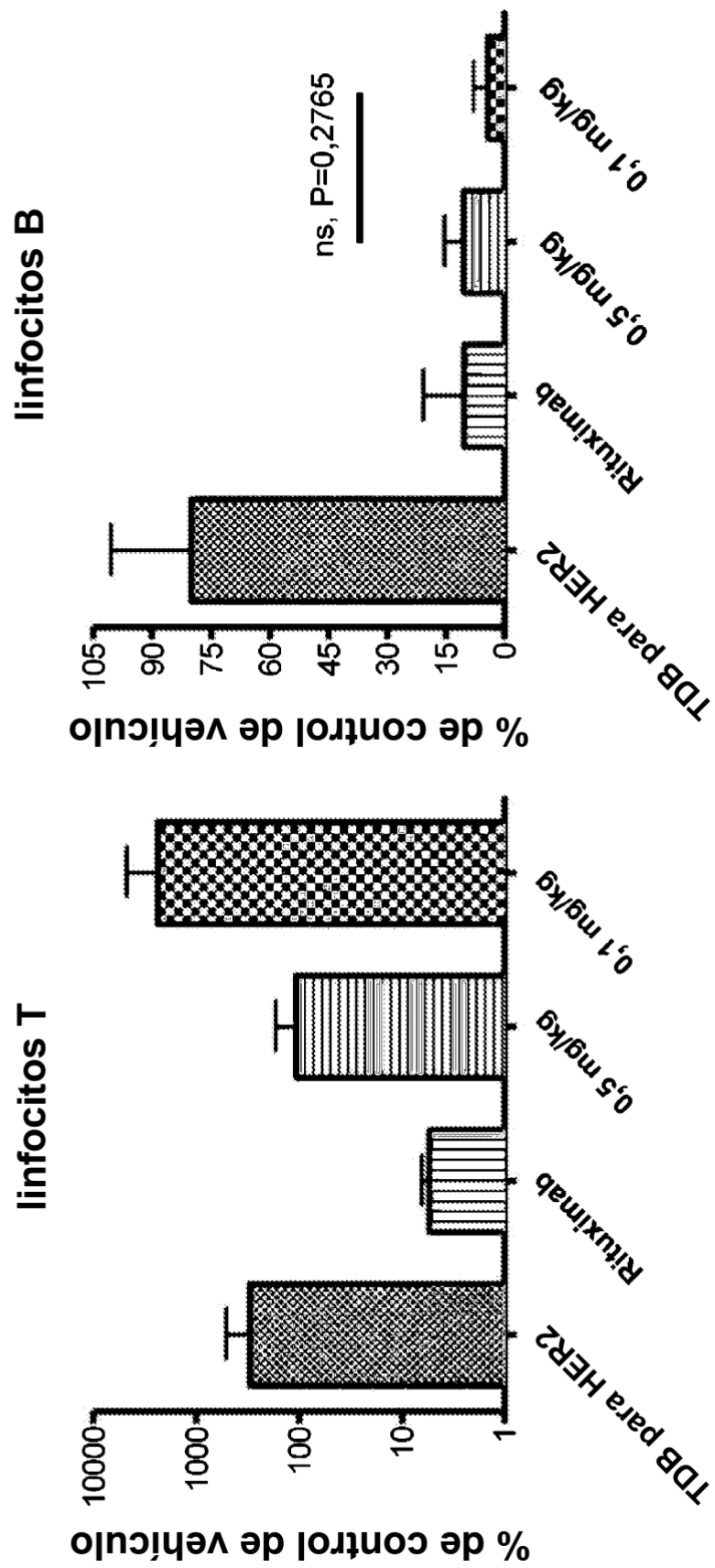


Figura 62B

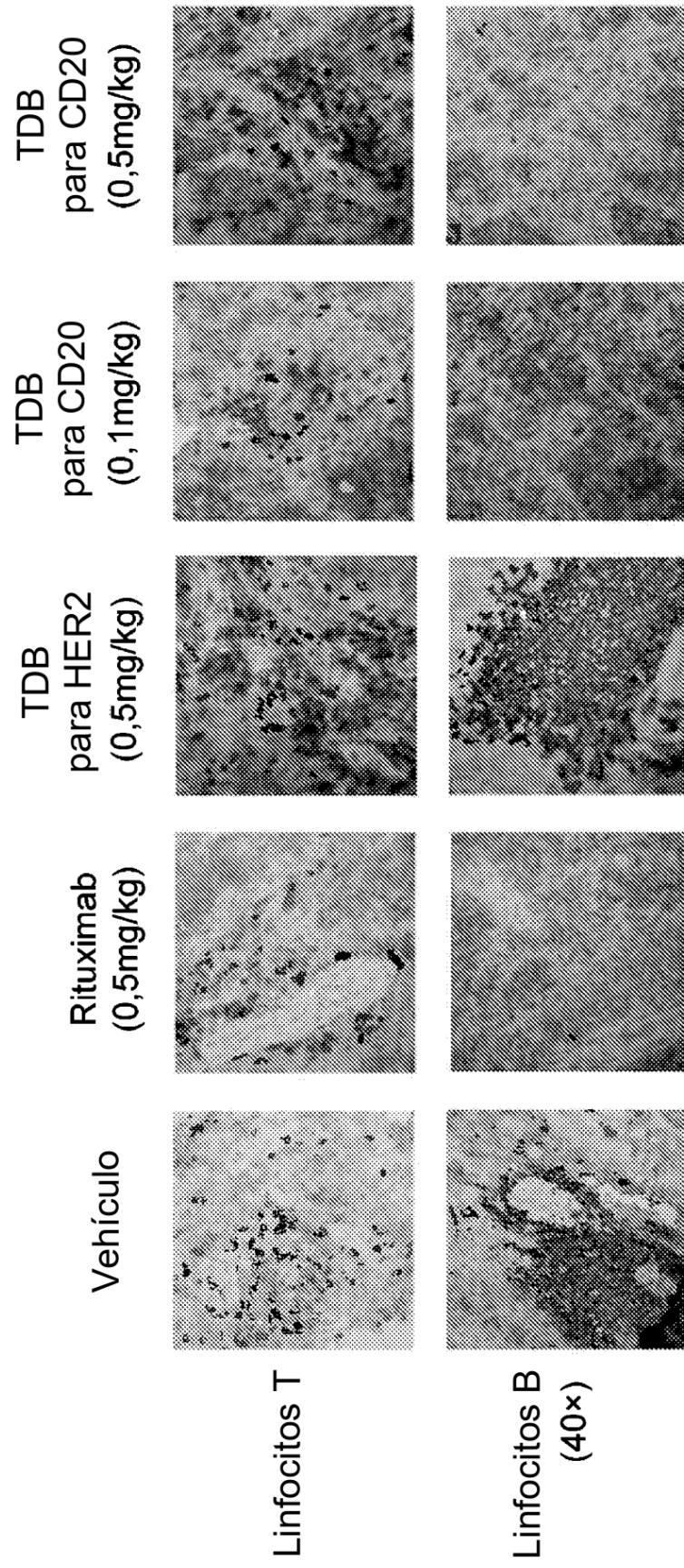


Figura 63

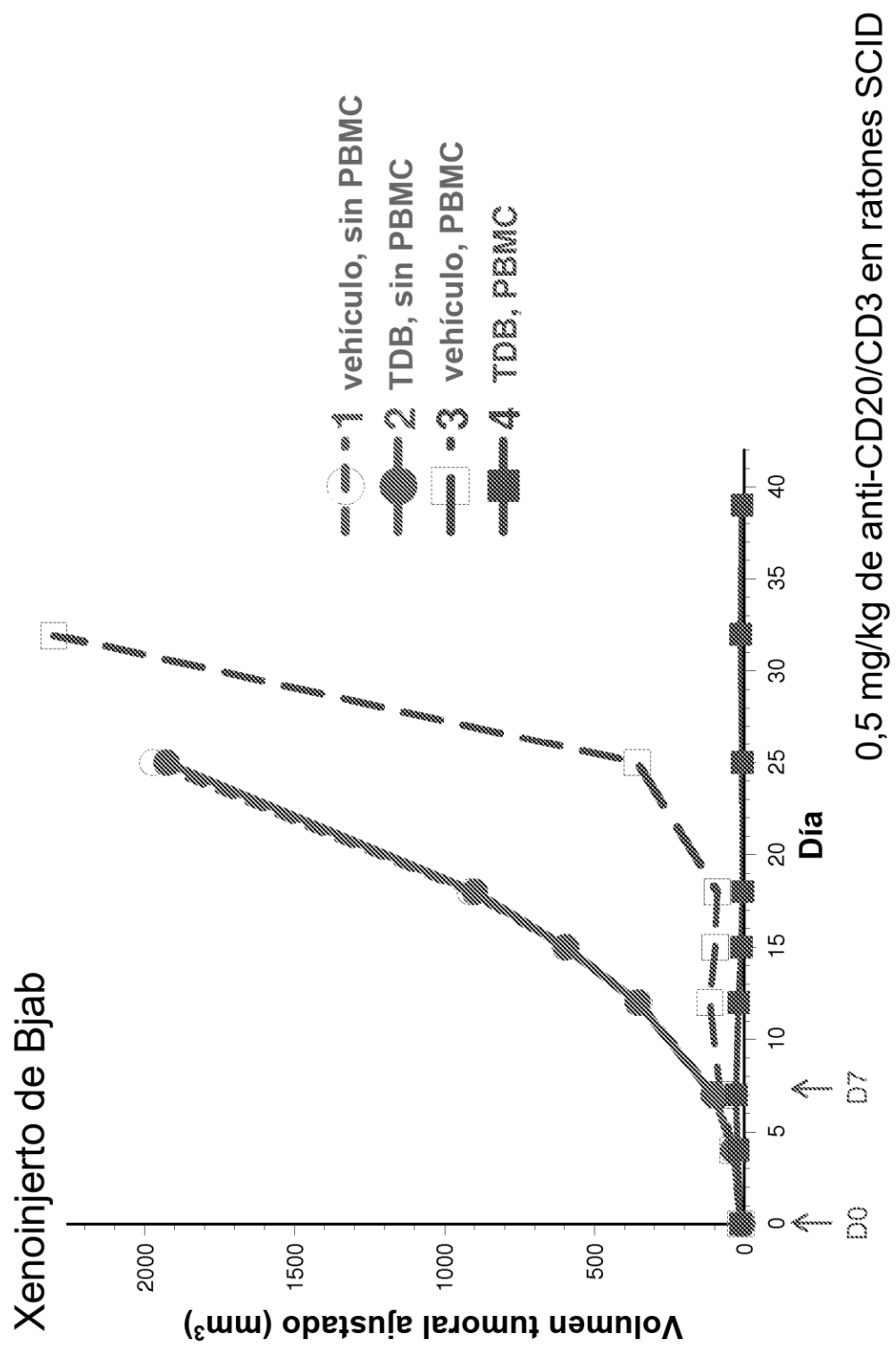


Figura 64A

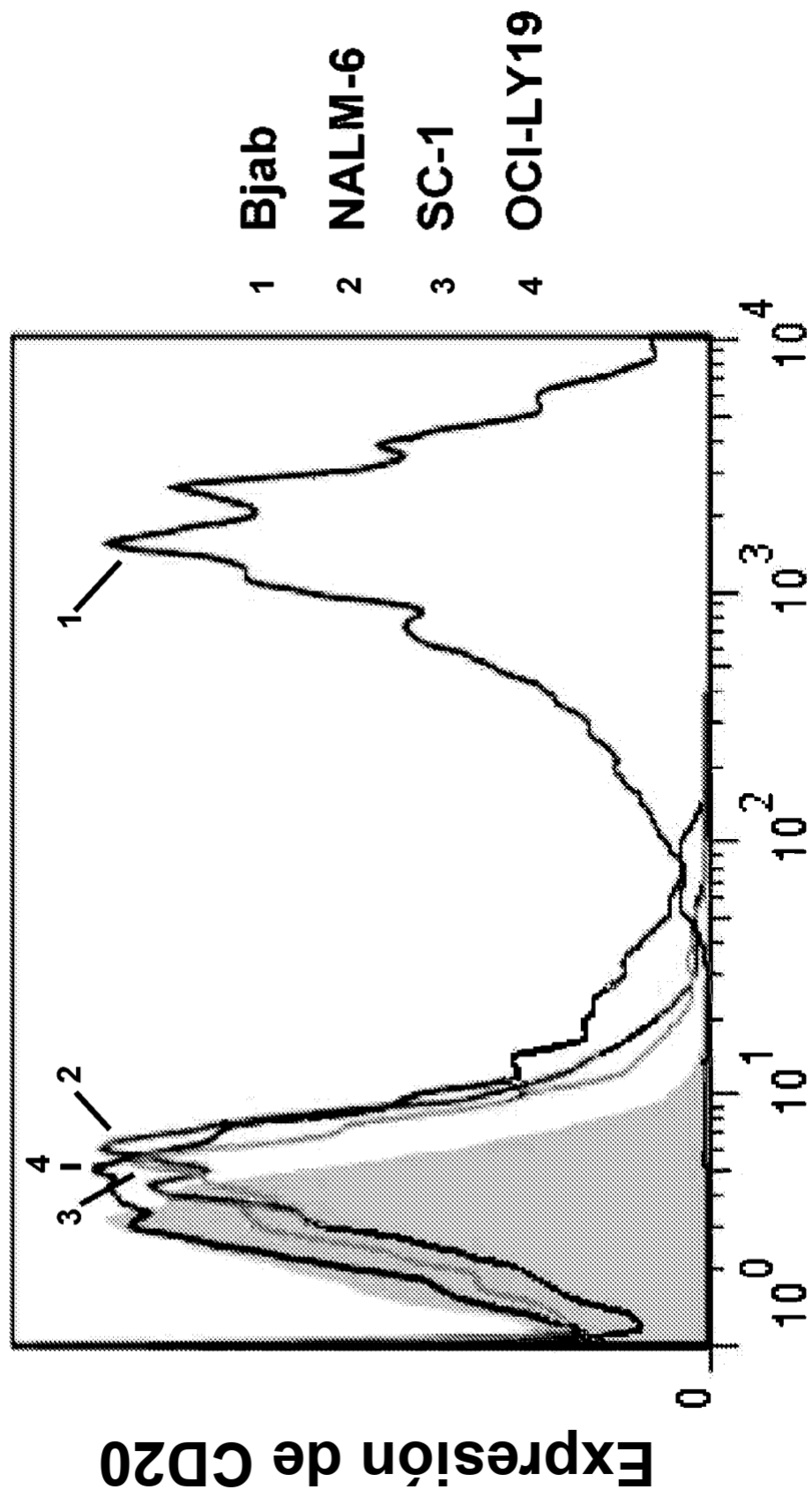


Figura 64B

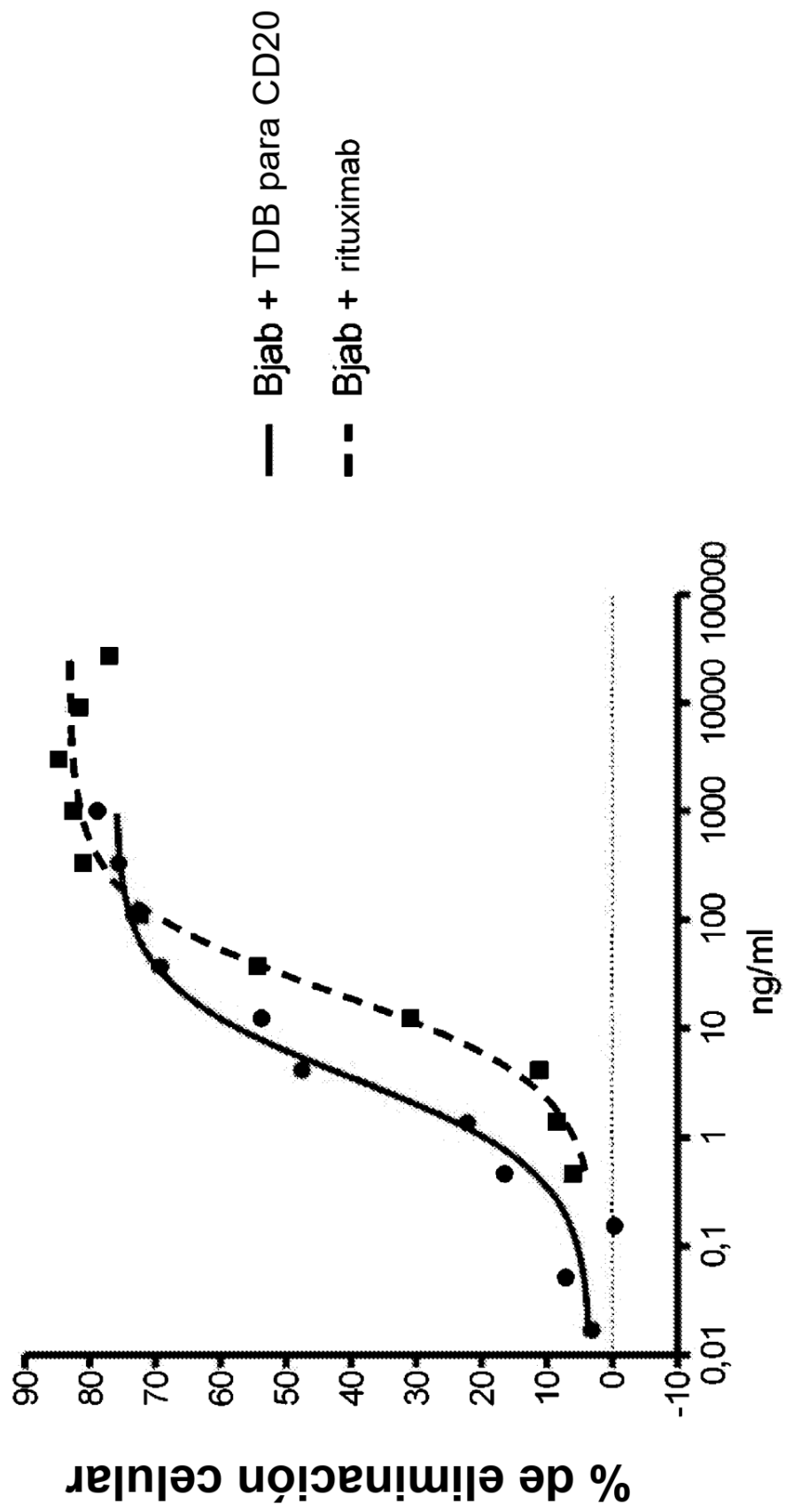


Figura 64C

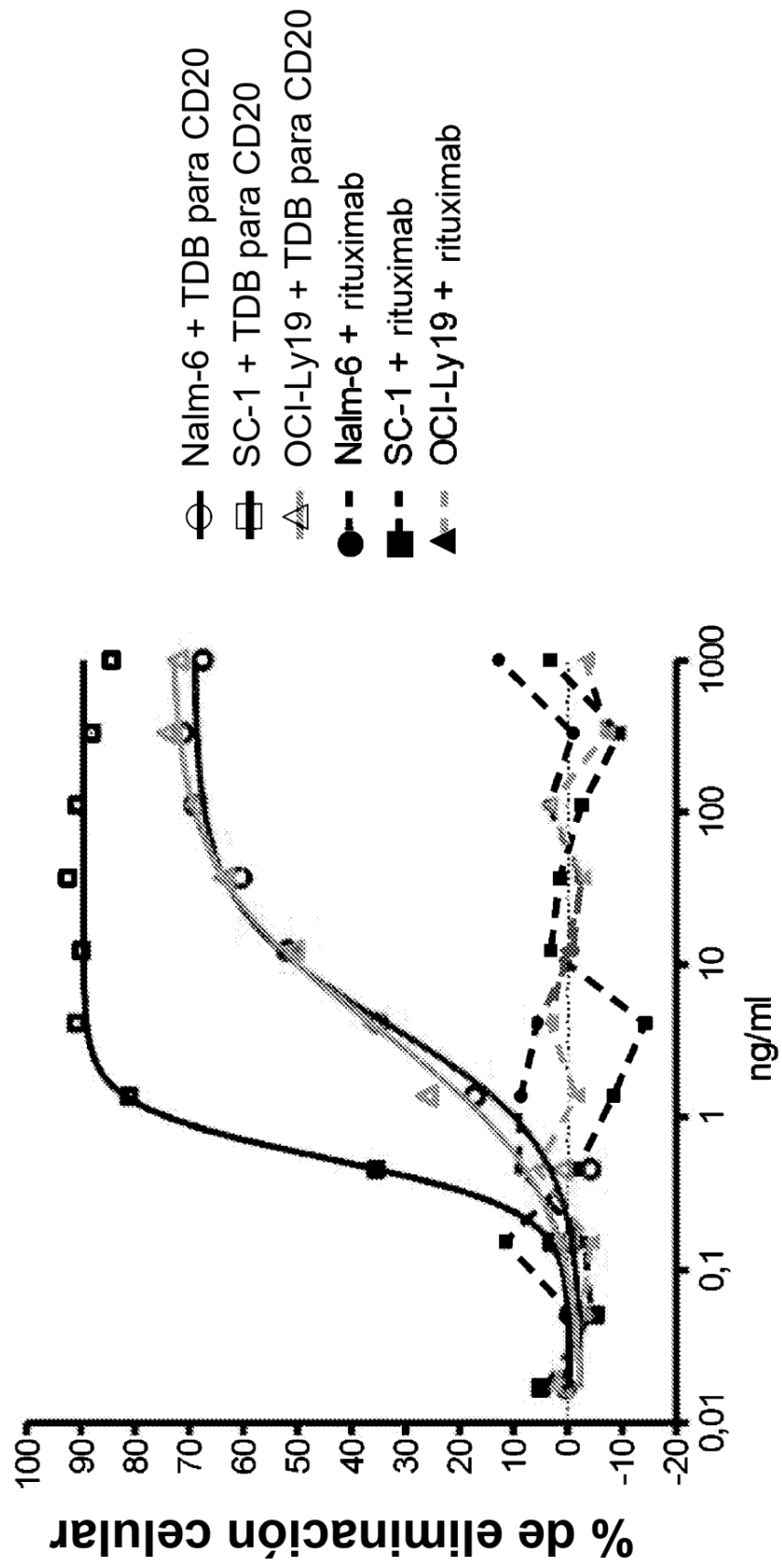


Figura 64D

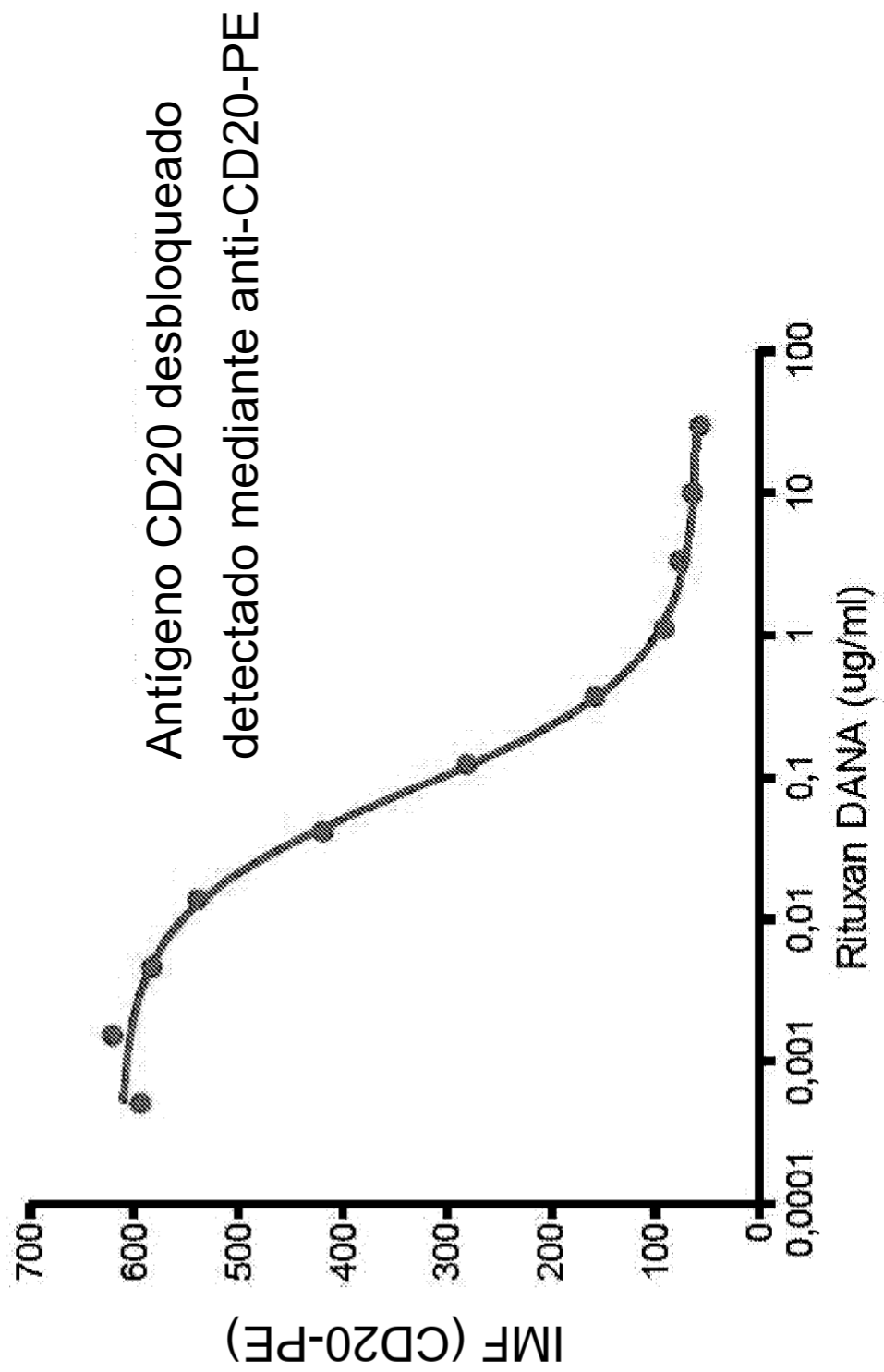


Figura 65A

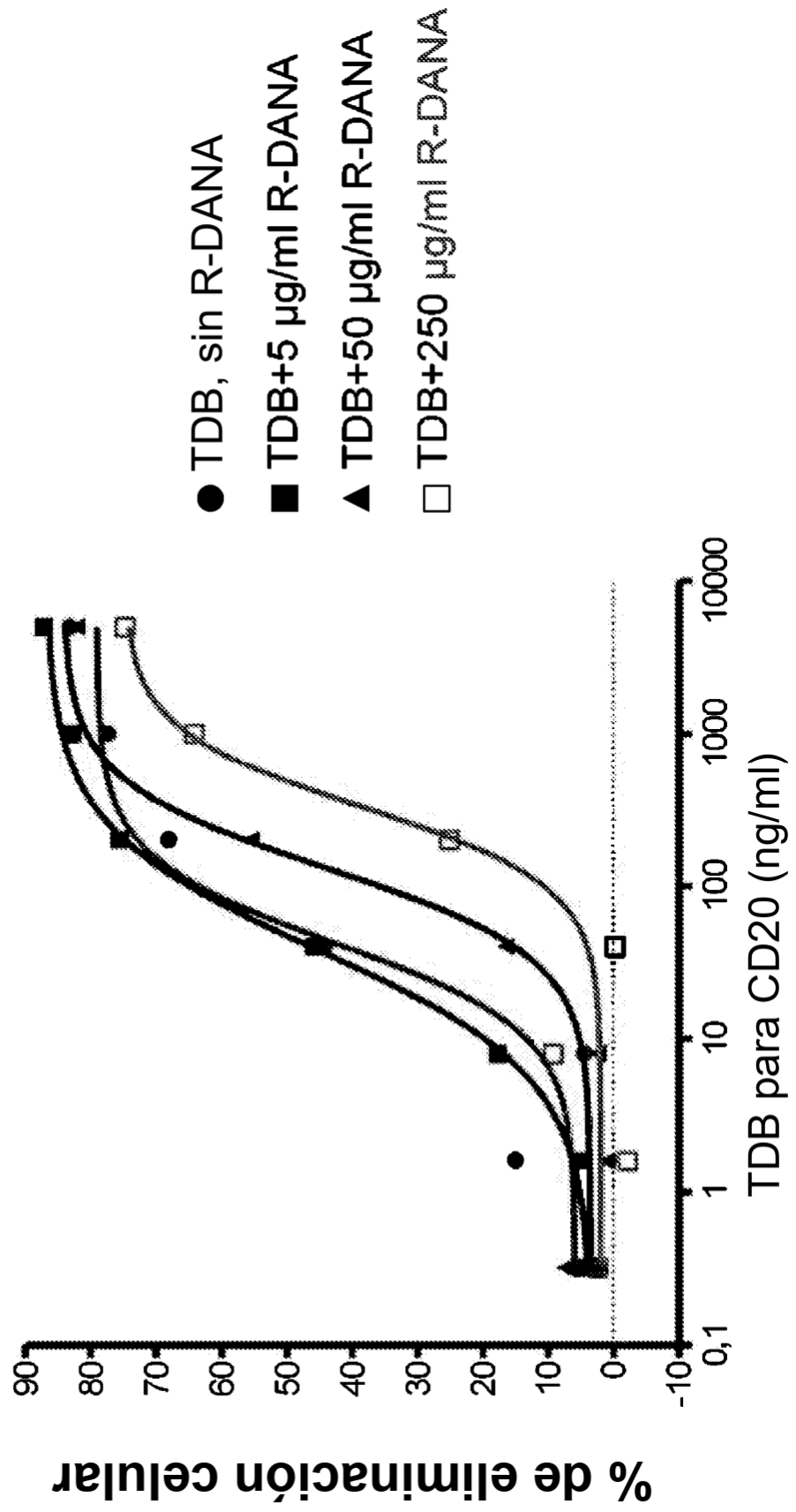


Figura 65B

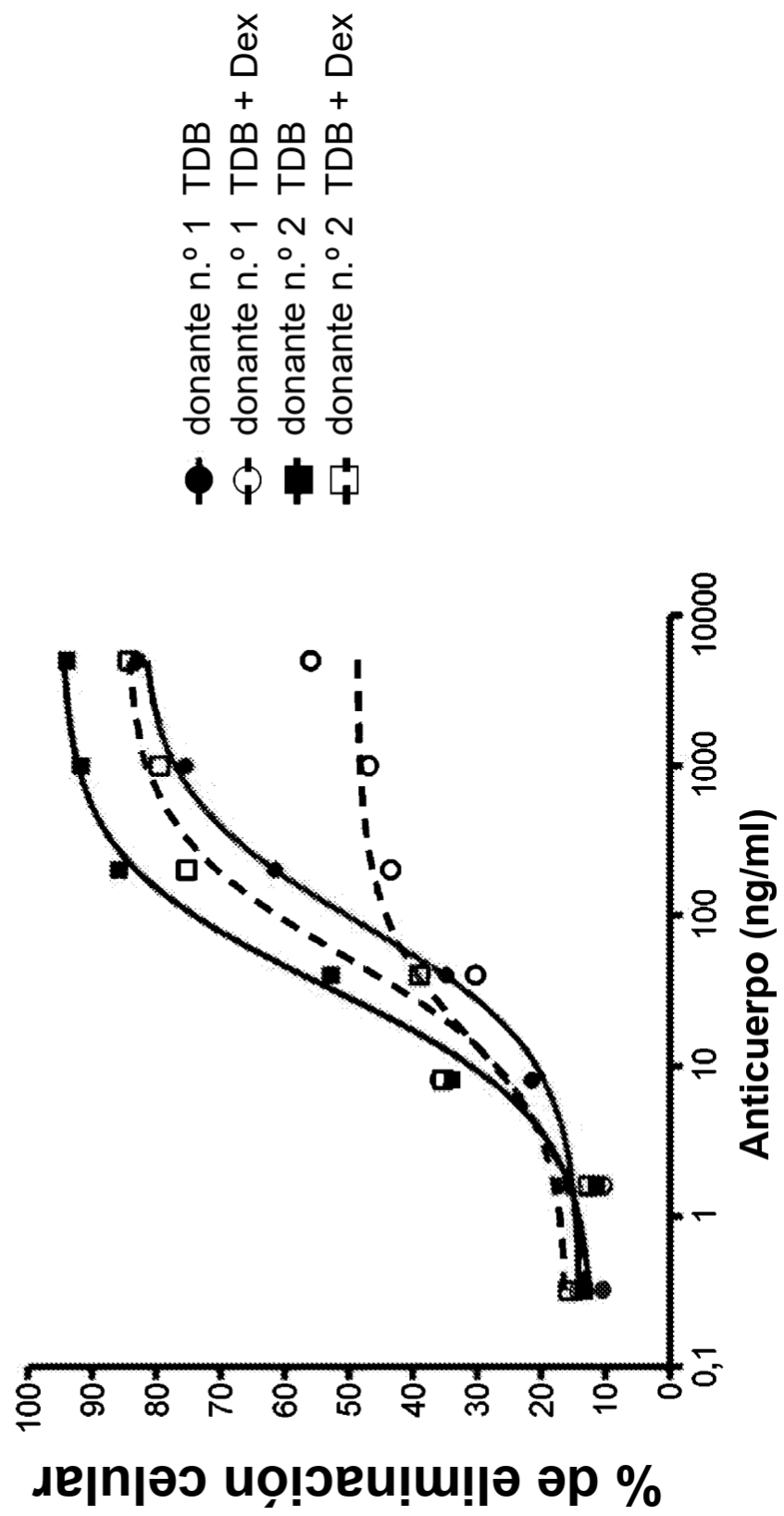


Figura 66

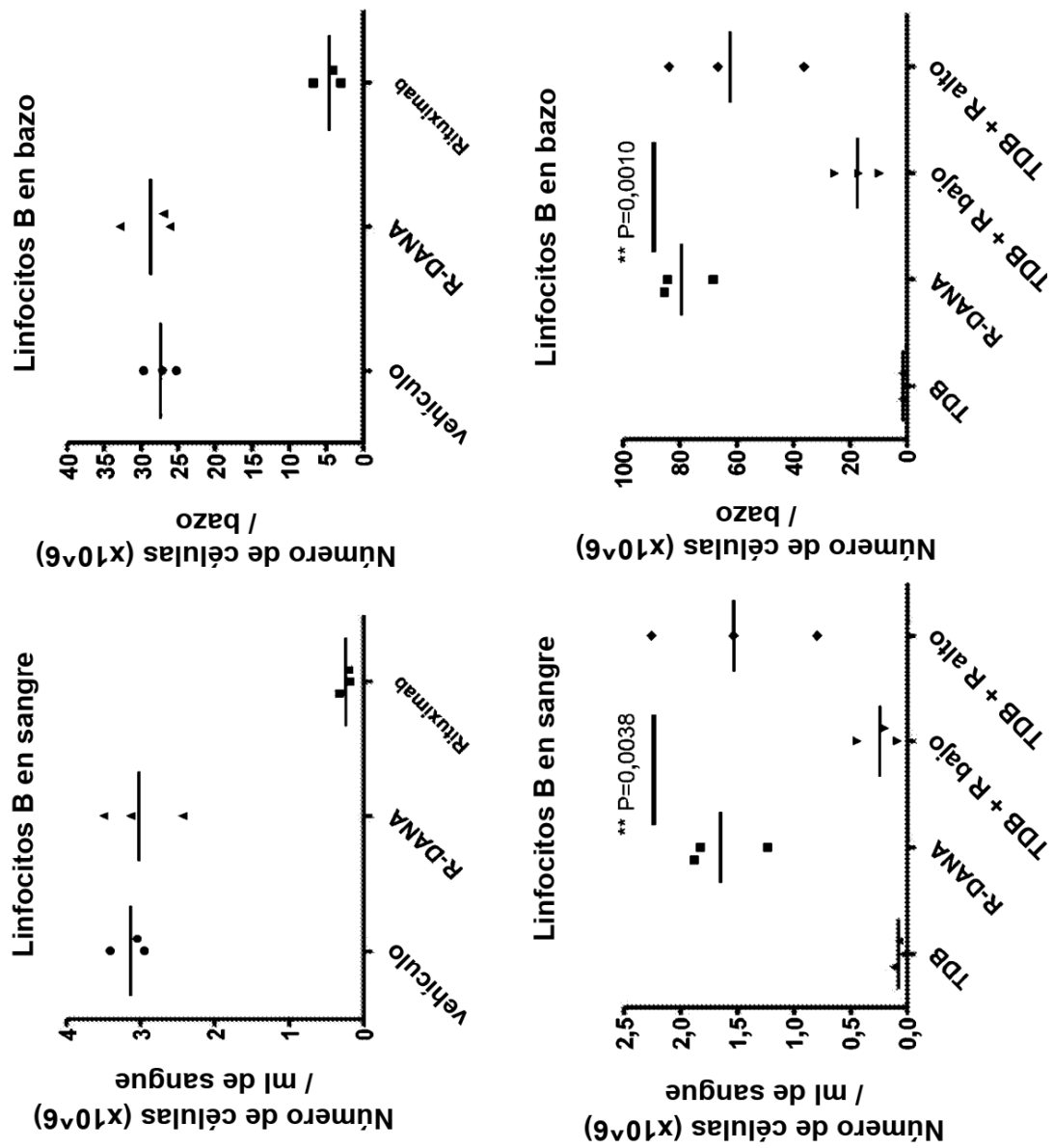


Figura 67A

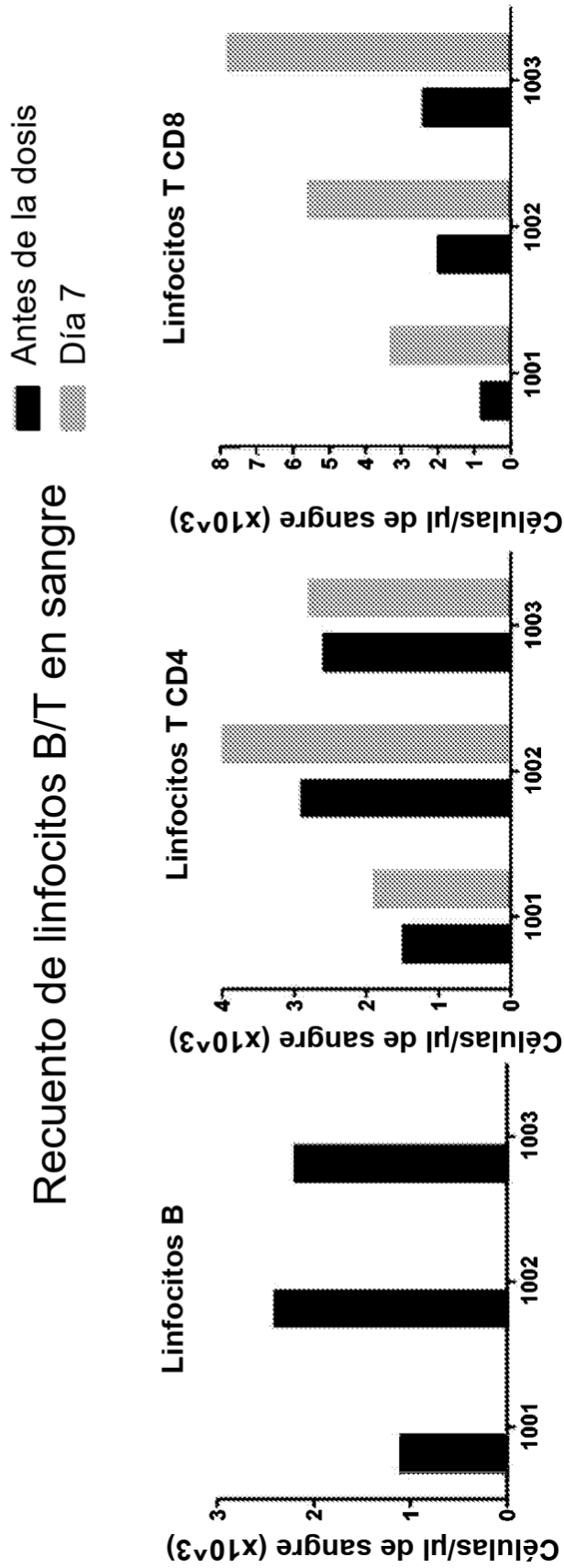


Figura 67B

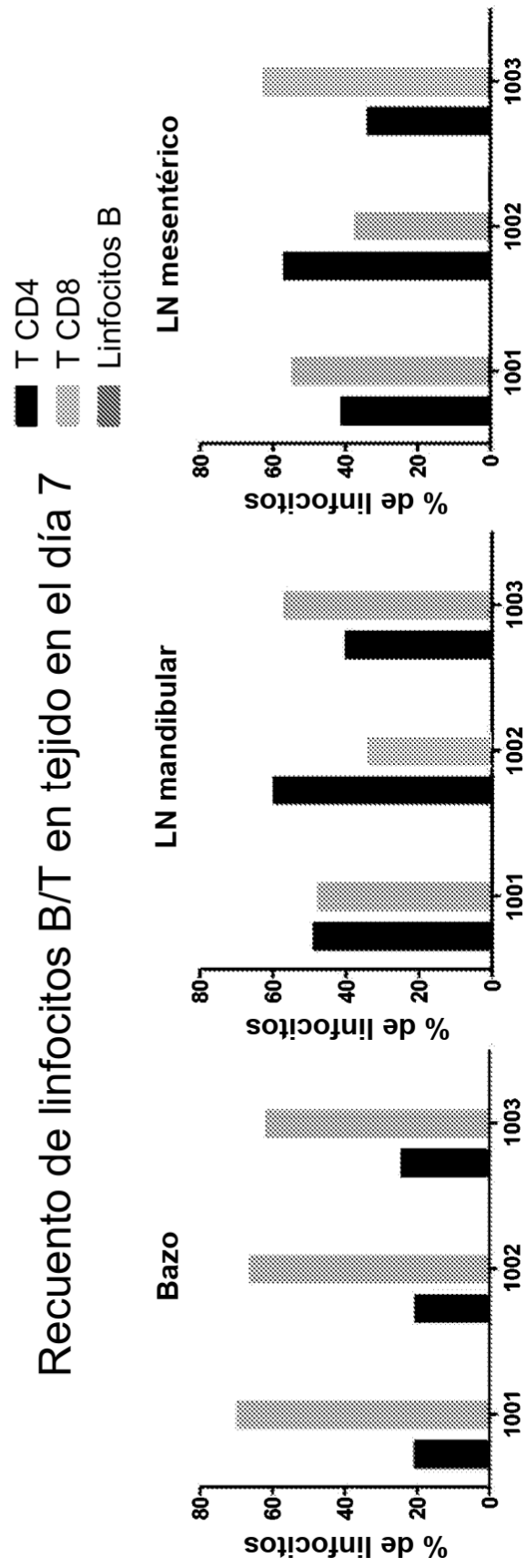


Figura 67C

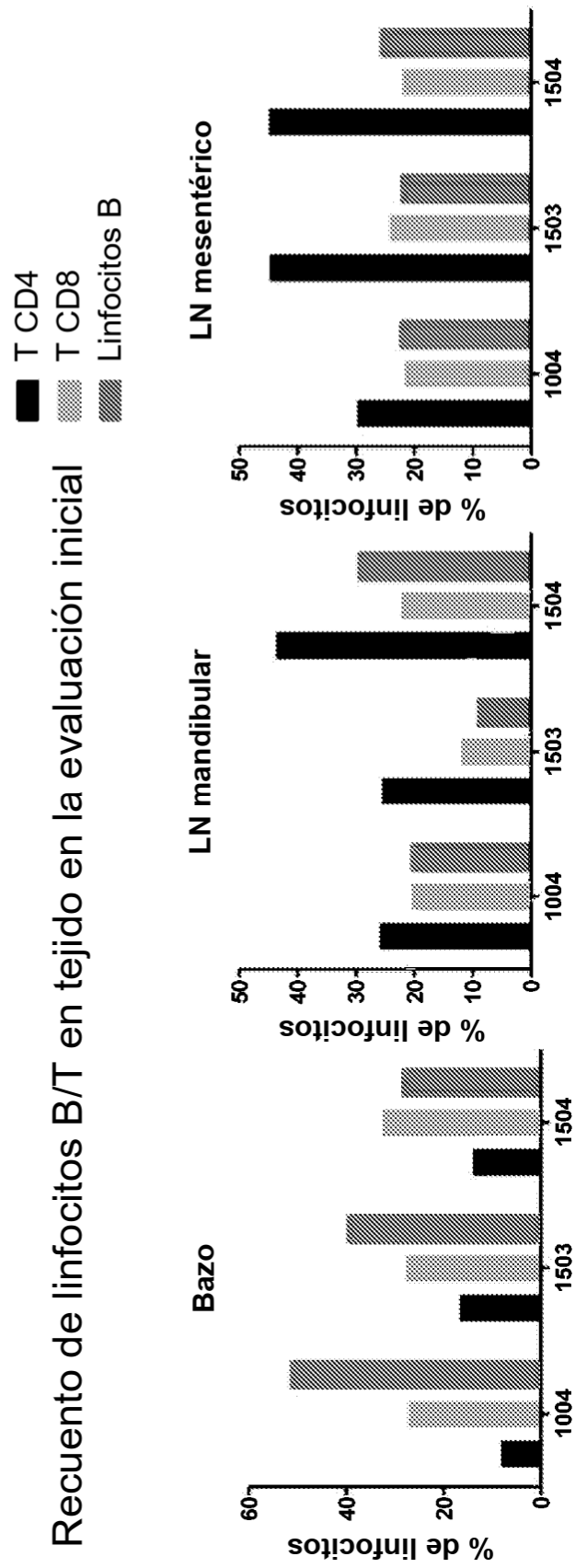


Figura 67D

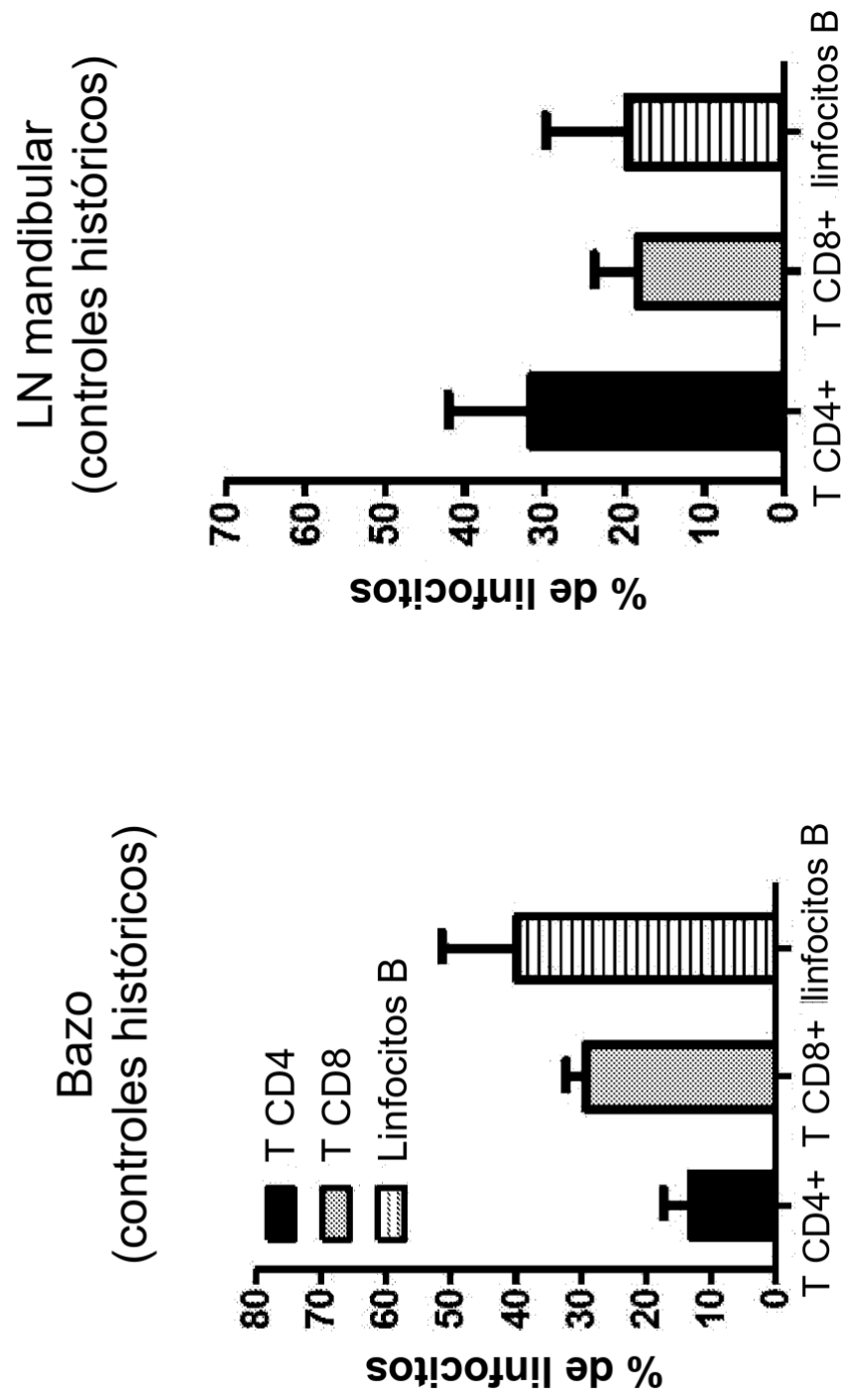


Figura 68A

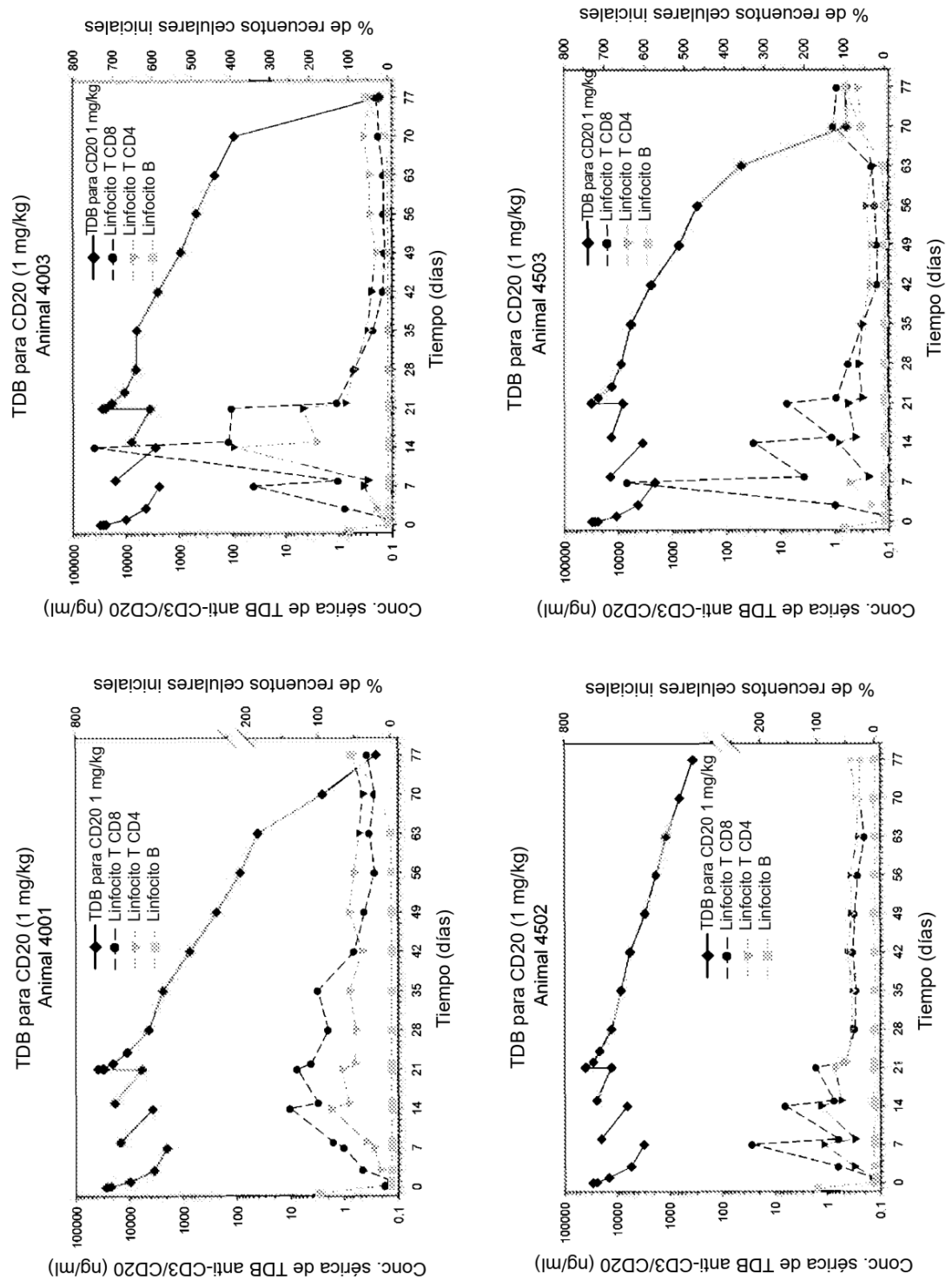
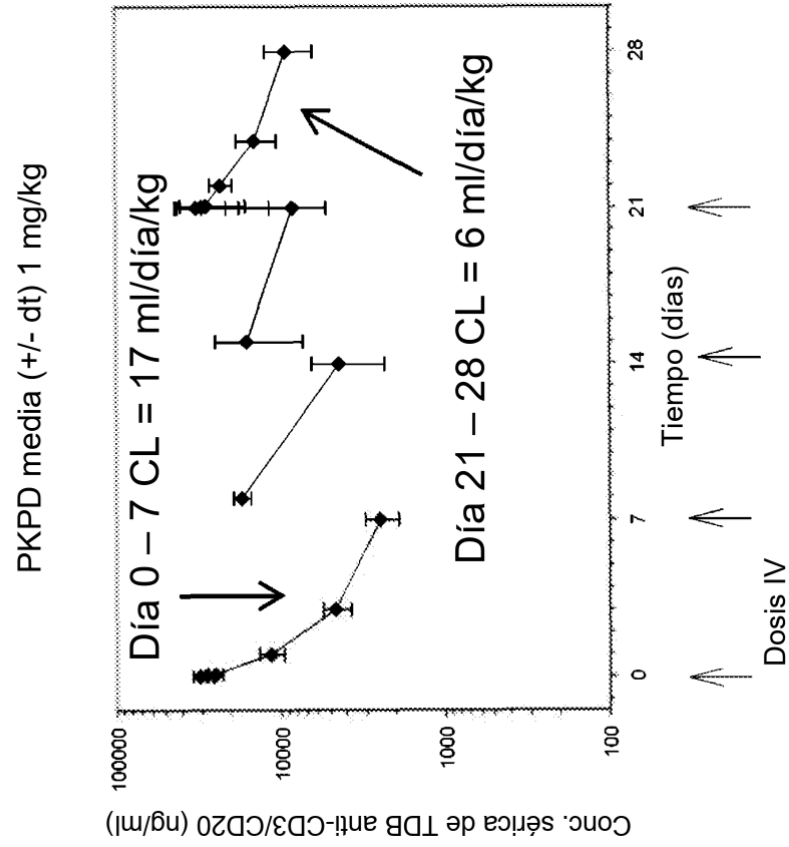
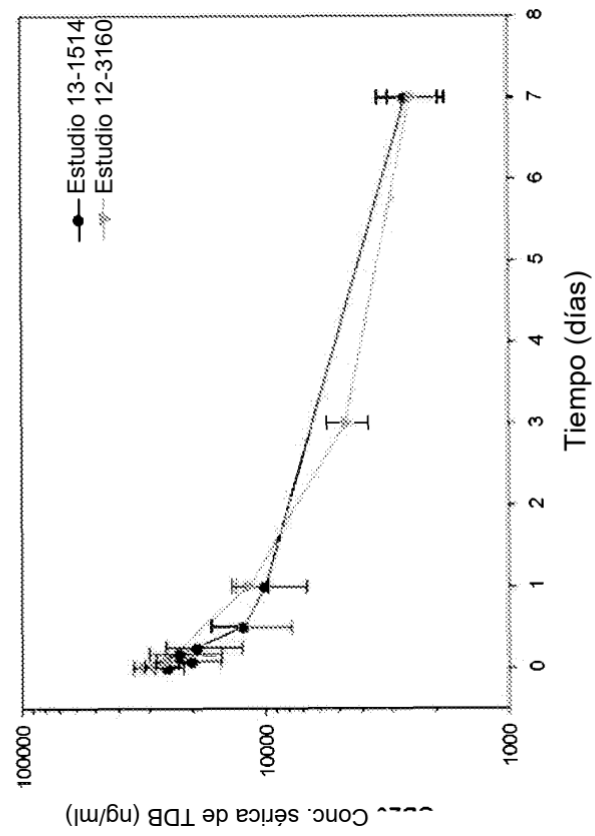


Figura 68B



Figuras 69A-69B

A

A20-huCD20 singénicas
en ratones Balb/C



Expresión de PD-L1
en células A20-huCD20

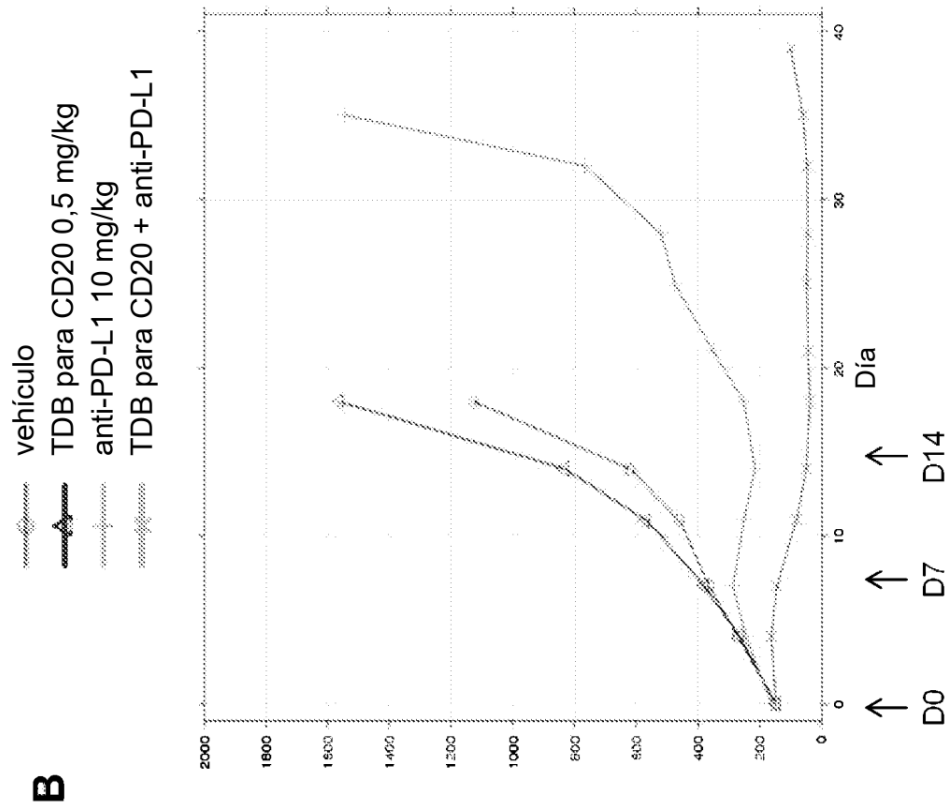
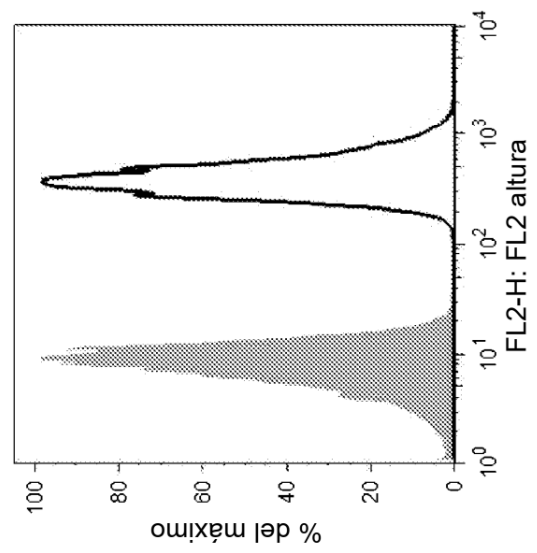
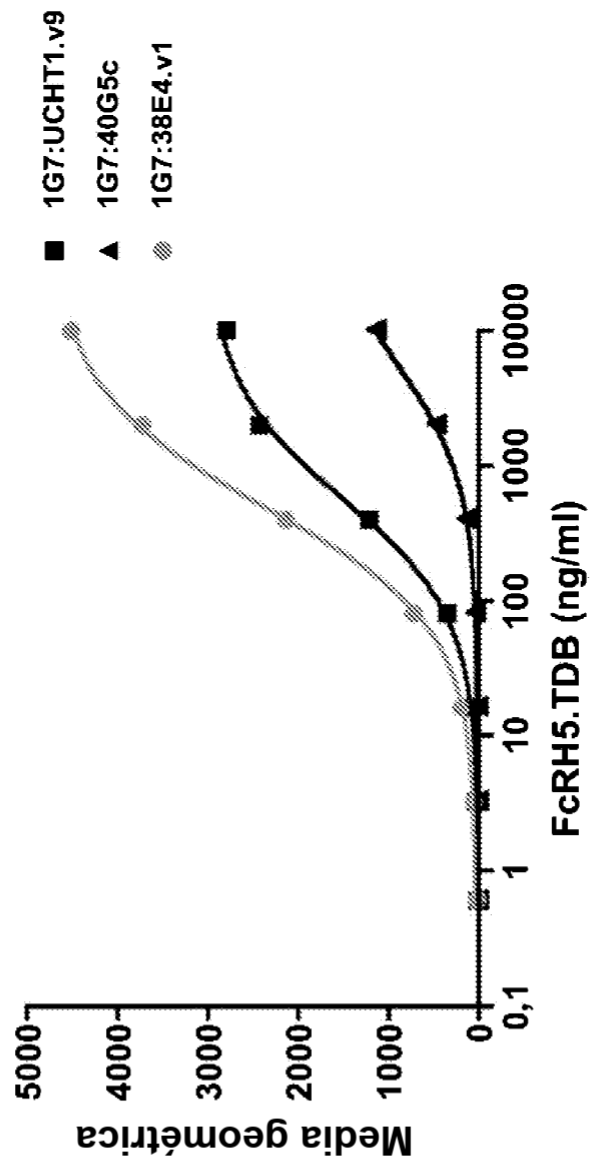


Figura 70

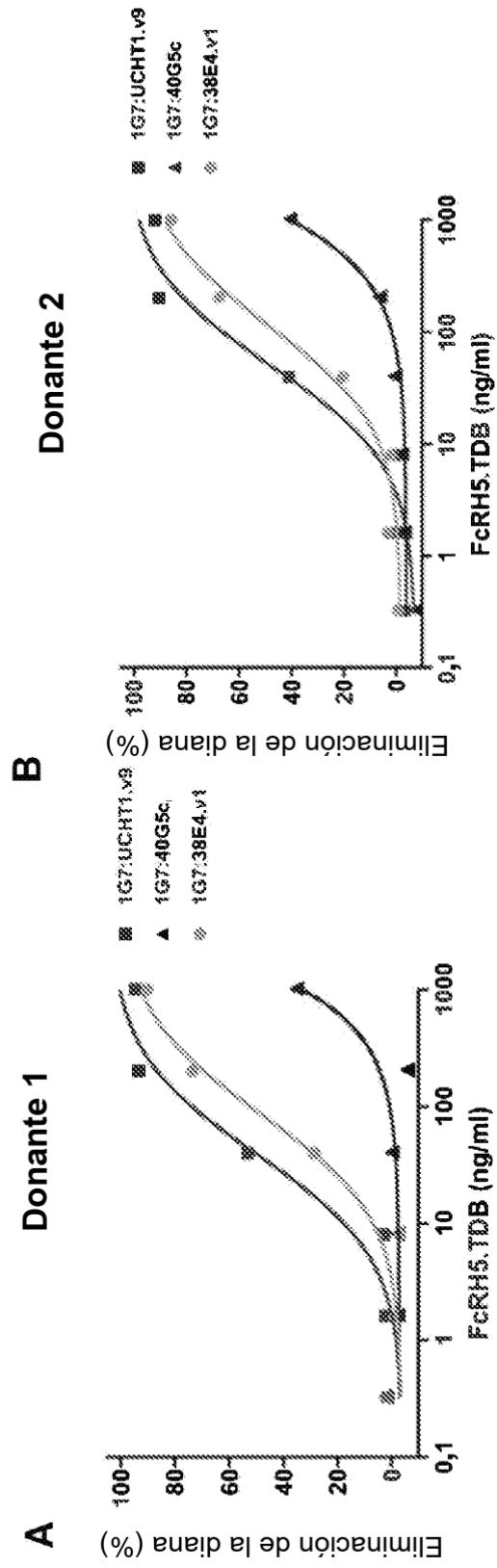
Unión a células CD8+



Unión:
38E4.v1 > UCHT1.v9 > 40G5c

Figuras 71A-71B

Eliminación de células diana (MOLP-2)



CE50

1G7.UCHT1.v9: 262 pM

1G7.40G5c: na

1G7.38E4.v1: 576 pM

Eliminación de la diana:

UCHT1.v9 > 38E4.v1 > 40G5c

CE50

1G7.UCHT1.v9: 333 pM

1G7.40G5c: na

1G7.38E4.v1: 734 pM

Células efectoras: CD8+ humanas purificadas

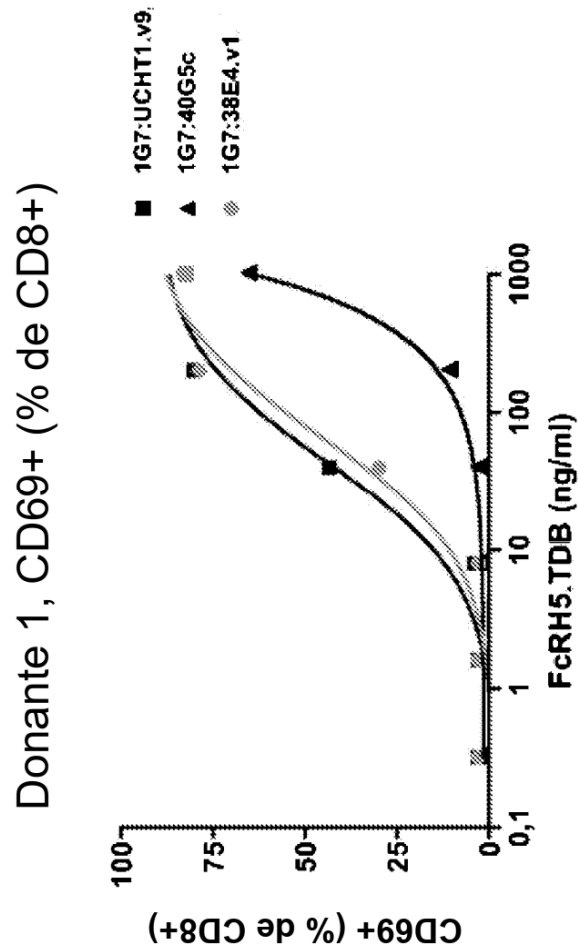
Células diana: MOLP-2

E:T = 3:1

Tiempo: 48 horas

Figura 72A

Activación de linfocitos T

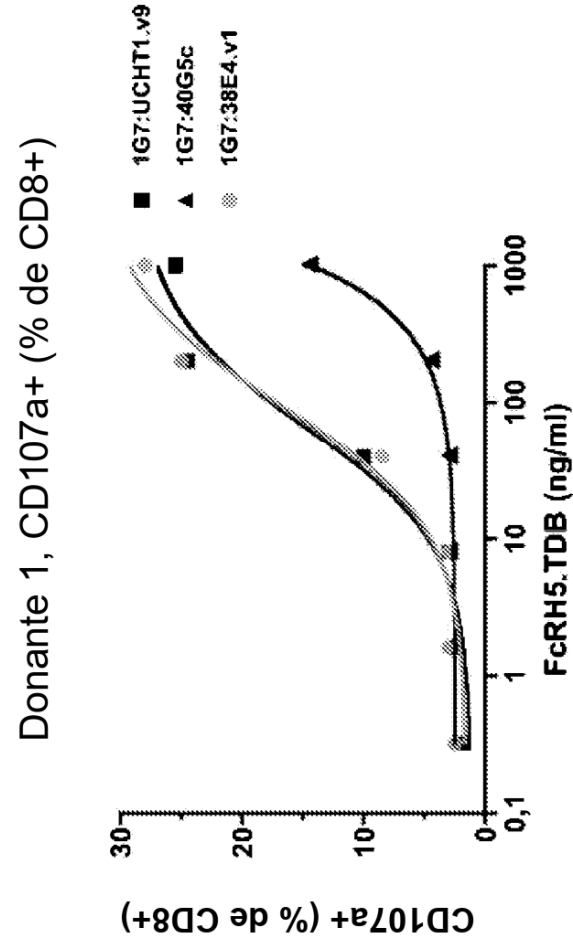


Células efectoras: CD8+ humanas purificadas
Células diana: MOLP-2
E:T = 3:1
Tiempo: 24 horas

Activación de T:
UCHT1.v9 >= 38E4.v1 > 40G5c

Figura 72B

Activación de linfocitos T

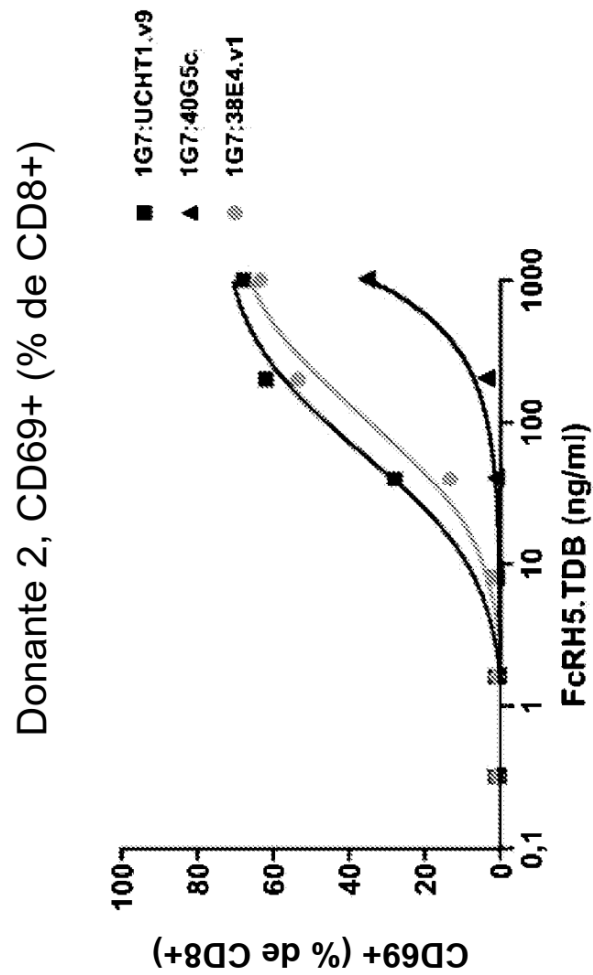


Células efectoras: CD8+ humanas purificadas
Células diana: MOLP-2
E:T = 3:1
Tiempo: 24 horas

Activación de T:
UCHT1.v9 >= 38E4.v1 > 40G5c

Figura 72C

Activación de linfocitos T



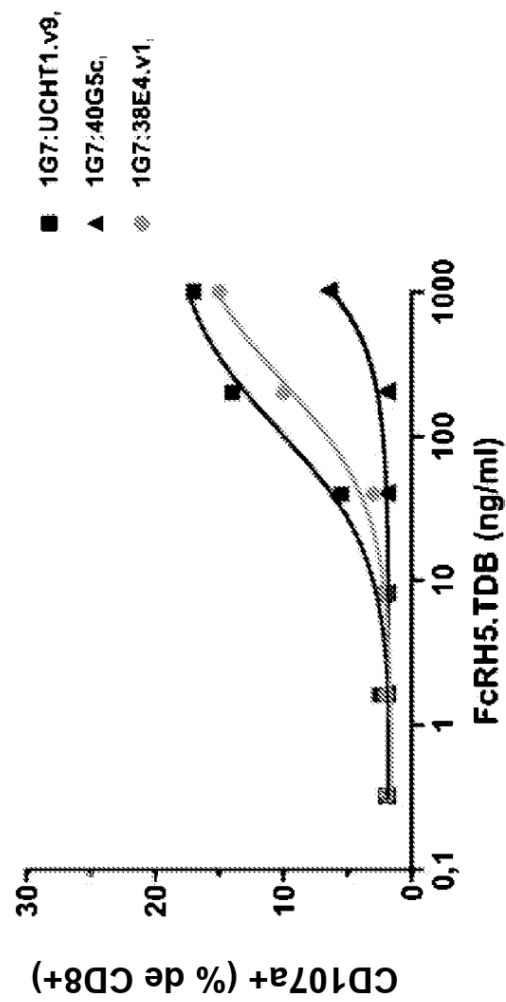
Activación de T:
 UCHT1.v9 >= 38E4.v1 > 40G5c

Células efectoras: CD8+ humanas purificadas
 Células diana: MOLP-2
 E:T = 3:1
 Tiempo: 24 horas

Figura 72D

Activación de linfocitos T

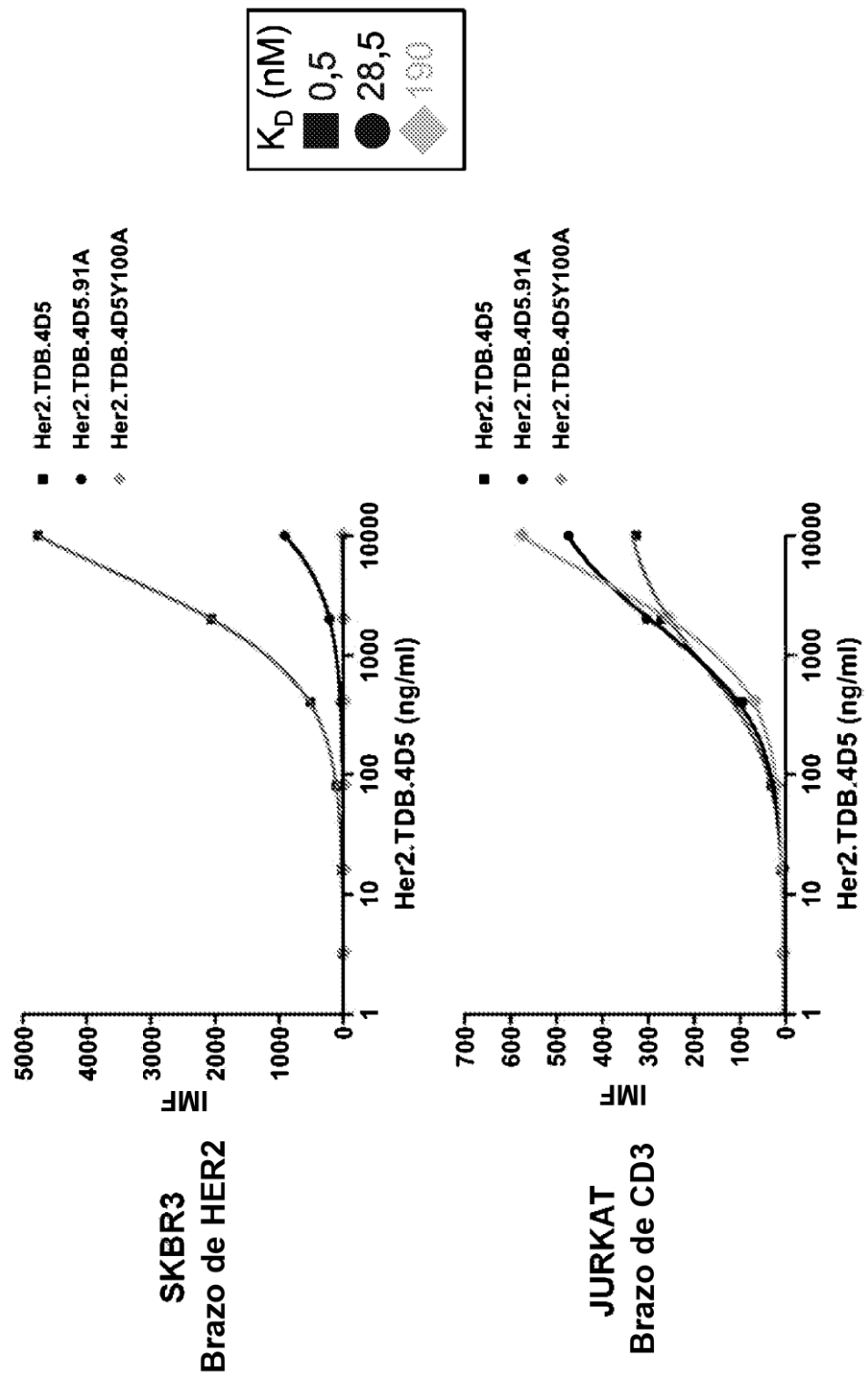
Donante 2, CD107a+ (% de CD8+)



Células efectoras: CD8+ humanas purificadas
 Células diana: MOLP-2
 E:T = 3:1
 Tiempo: 24 horas

Activación de T:
 UCHT1.v9 >= 38E4.v1 > 40G5c

Figura 73



Figuras 74A-74C

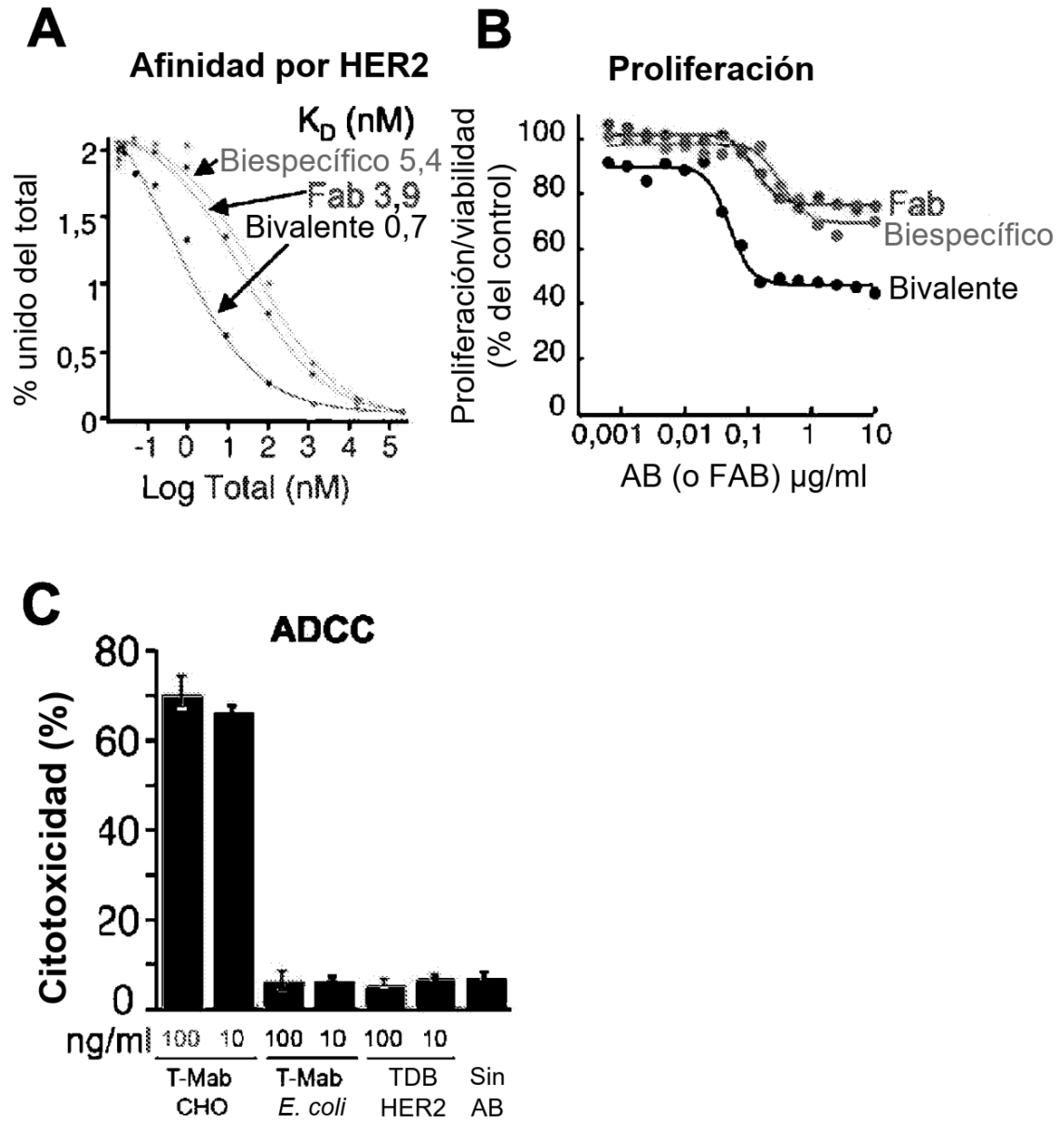
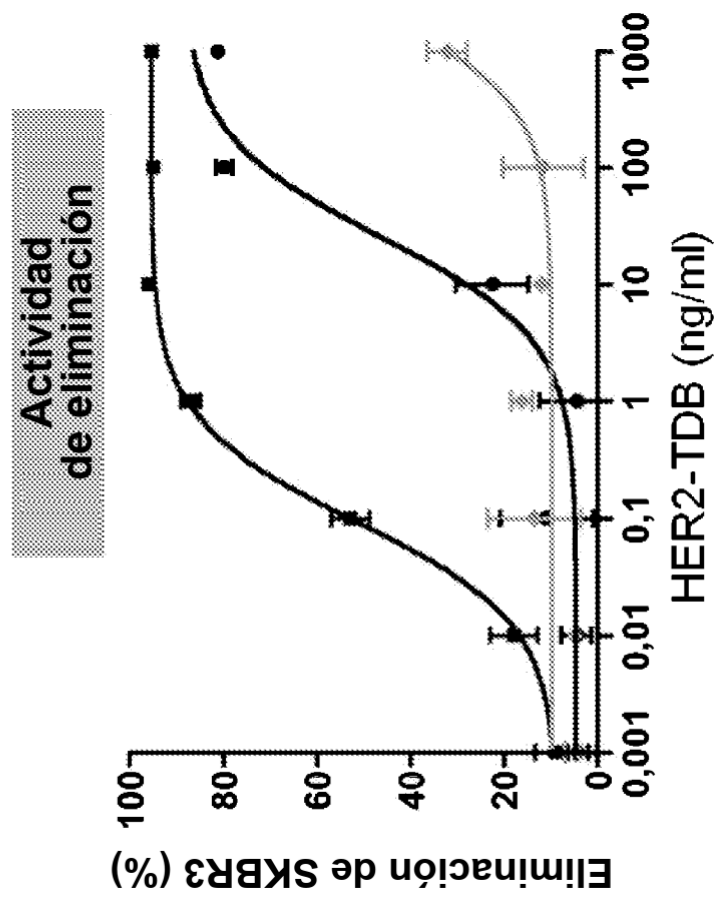


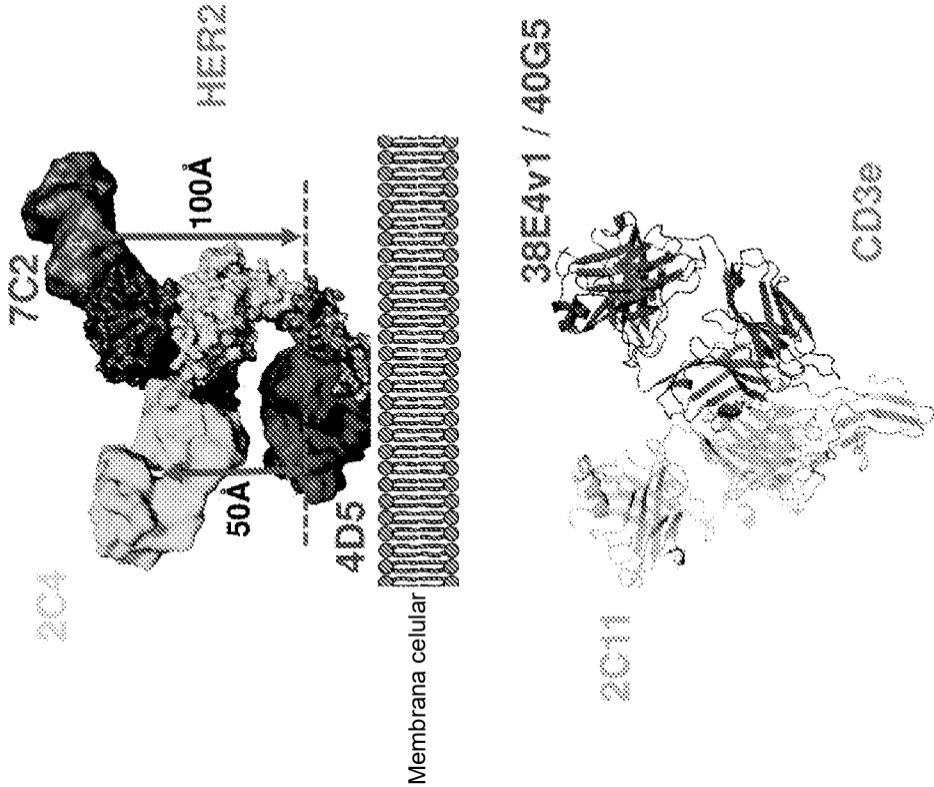
Figura 75



CE50:
 Her2.TDB.4D5: 0,1 ng/ml = 0,7 pM
 Her2.TDB.4D5.91A: 25,5 ng/ml = 170 pM
 Her2.TDB.4D5.Y100A: ...

Figuras 76A-76B

A



B

Brazo de HER2	K _D monov. (Biacore)
4D5	0,4 nM
2C4	2,0 nM
7C2	1,7 nM

Brazo de CD3	K _D monov. (Biacore)
38E4v1	1,3 nM
40G5c	51 nM
2C11*	22 nM

*específico de ratón, usado como sustituto de eficacia *in vivo*

Figura 76C

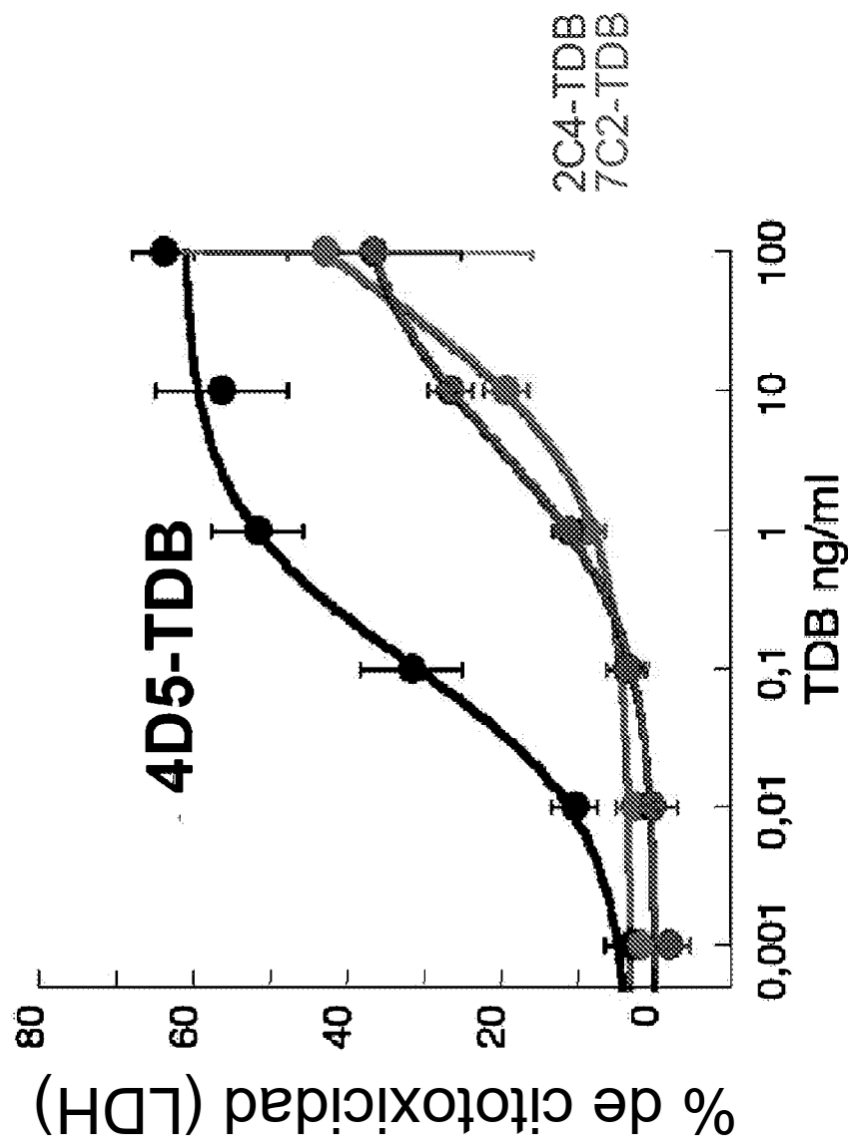


Figura 77

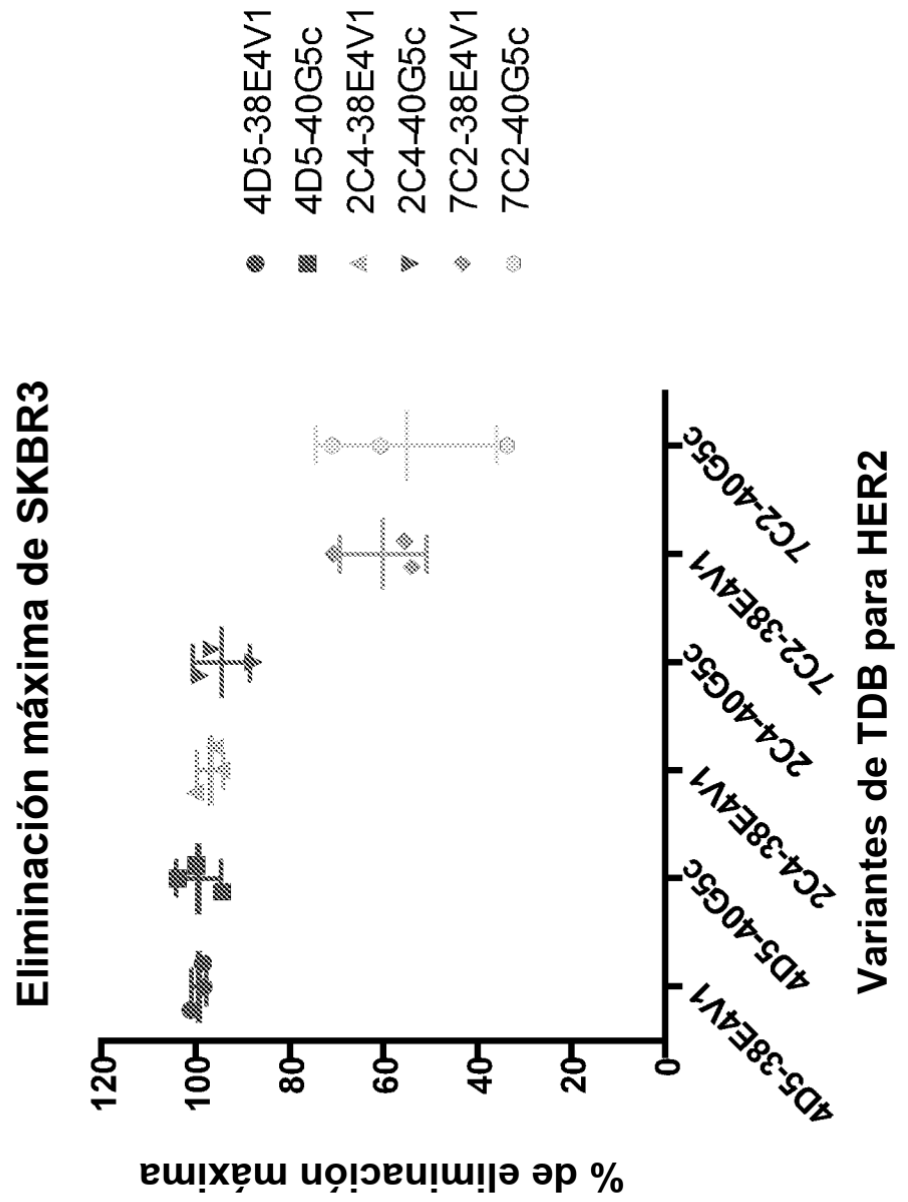


Figura 78

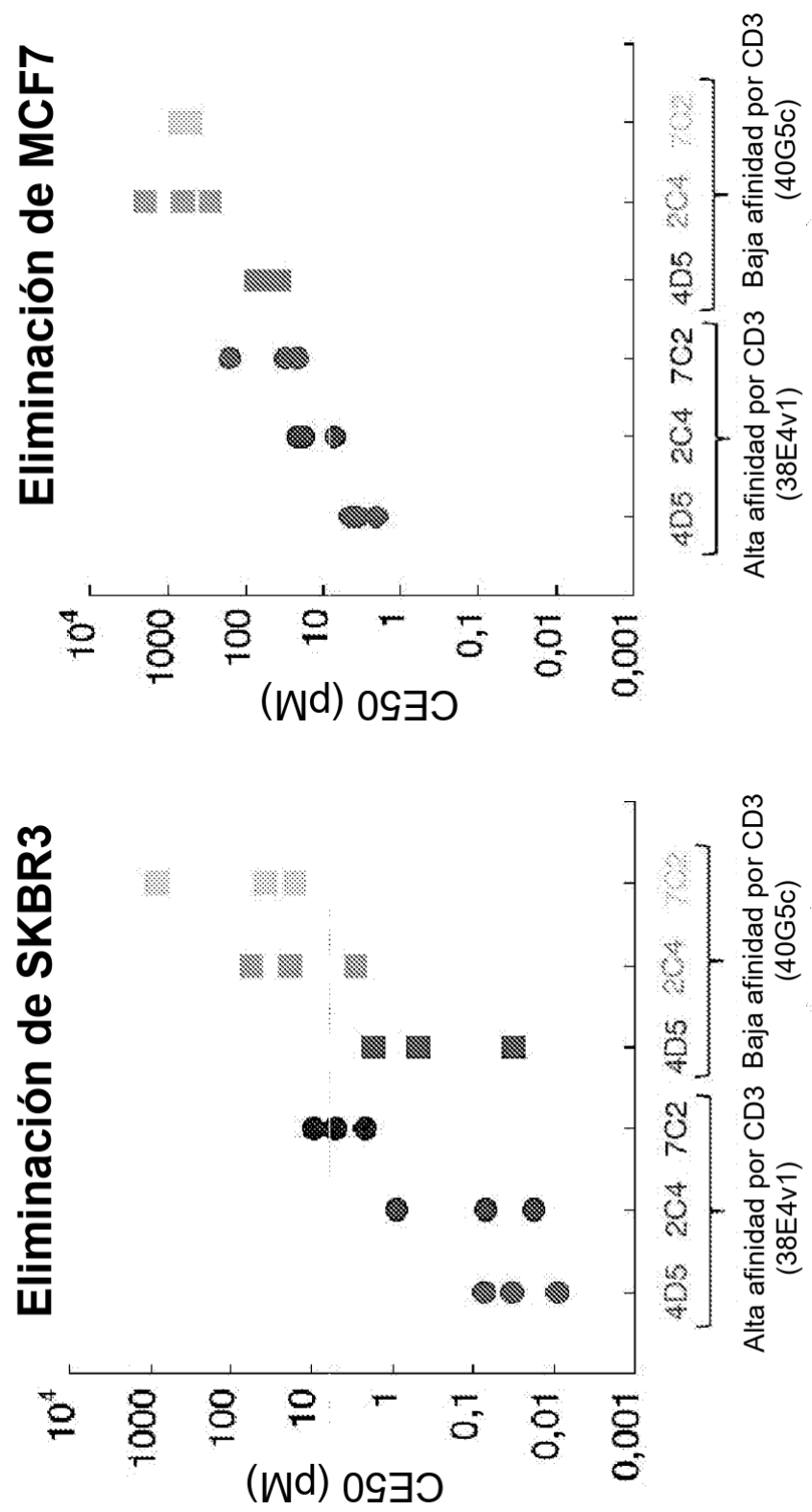


Figura 79

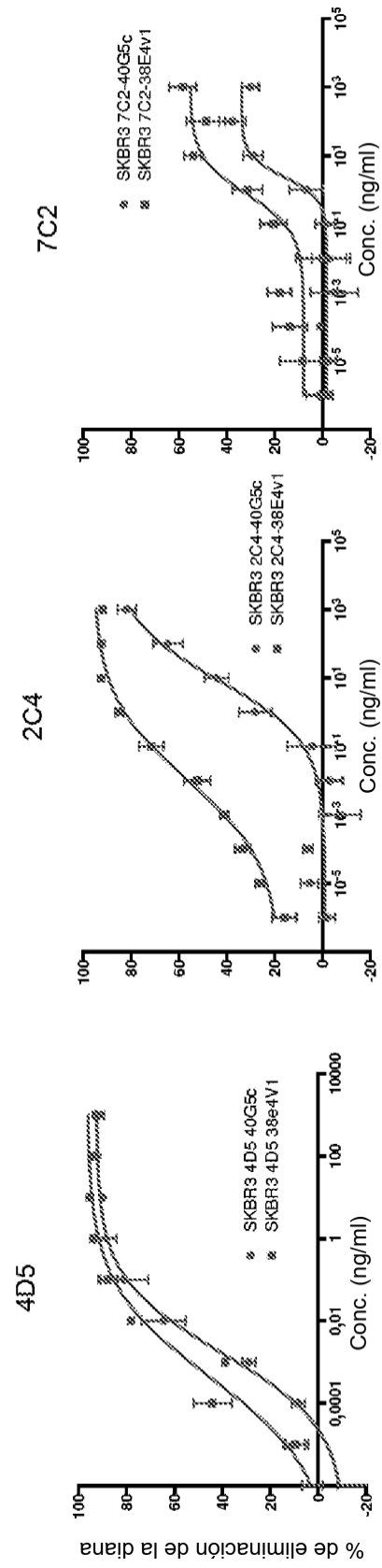


Figura 81

Variante	CE50 de SKBR3 ng/ml	KD de HER2 (nM)	Mult. de KD	Múlt. de CE50 de SKBR3
4D5:40G5c	0,007577	0,5	1	1
hu4D5.v7	0,8575	2,7	5,4	113
hu4D5.v5	75,01	15,6	31,2	9900
hu4D5.v10	127,4	9,4	18,8	16814
hu4D5.v31	3202	16	32,0	422595
hu4D5.Y100A	>10K	60	120,0	

Múltiplo de diferencia frente a 4D5 TS

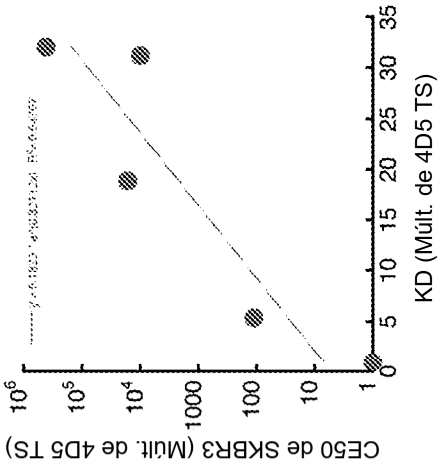


Figura 82

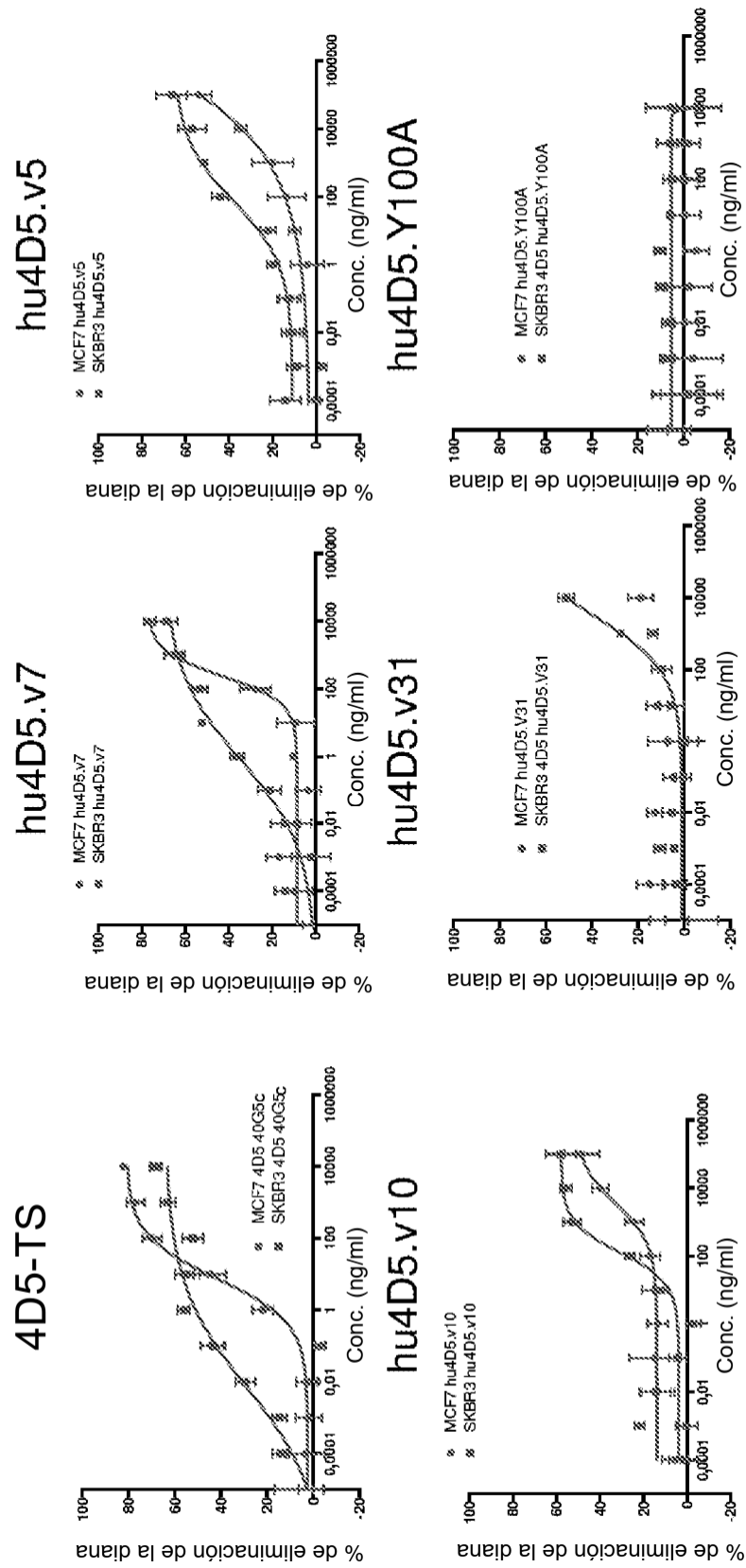


Figura 83

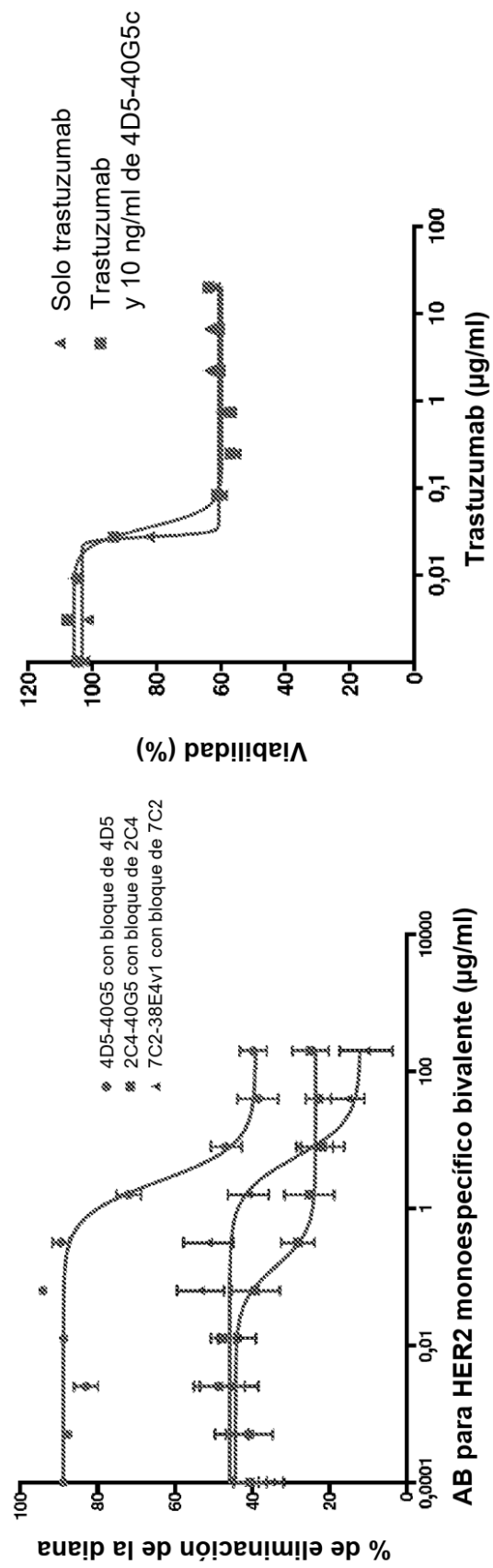


Figura 84

CLON	ELISA*	IP*	FACS*	DOMINIO	Epítipo **	Ensayado como biespecífico	Bloqueado por 4D5	Nota
2C4	+++	++	+++	2	22-584	S	N	Actividad media
2H11	+	++	++	4	529-645	S	S	Baja actividad
3E8	+	+++	+++	4	512-625	N	S	
3H4	+	+	+	4	541-599	S	S	Alta actividad
4D5	++	++	+++	4	561-625	S	S	Alta actividad
5B8	+	++	+	?		S	N	Baja actividad
6E9	++	+	NEG	?		N		Neg. para FACS
7C2	++	++	+++	1	22-53	S	N	Baja actividad
7F3	+++	+++	+++	1	22-53	N	N	Dominio1

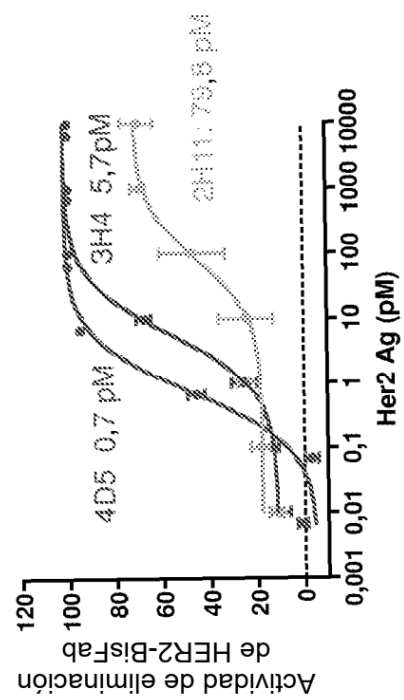
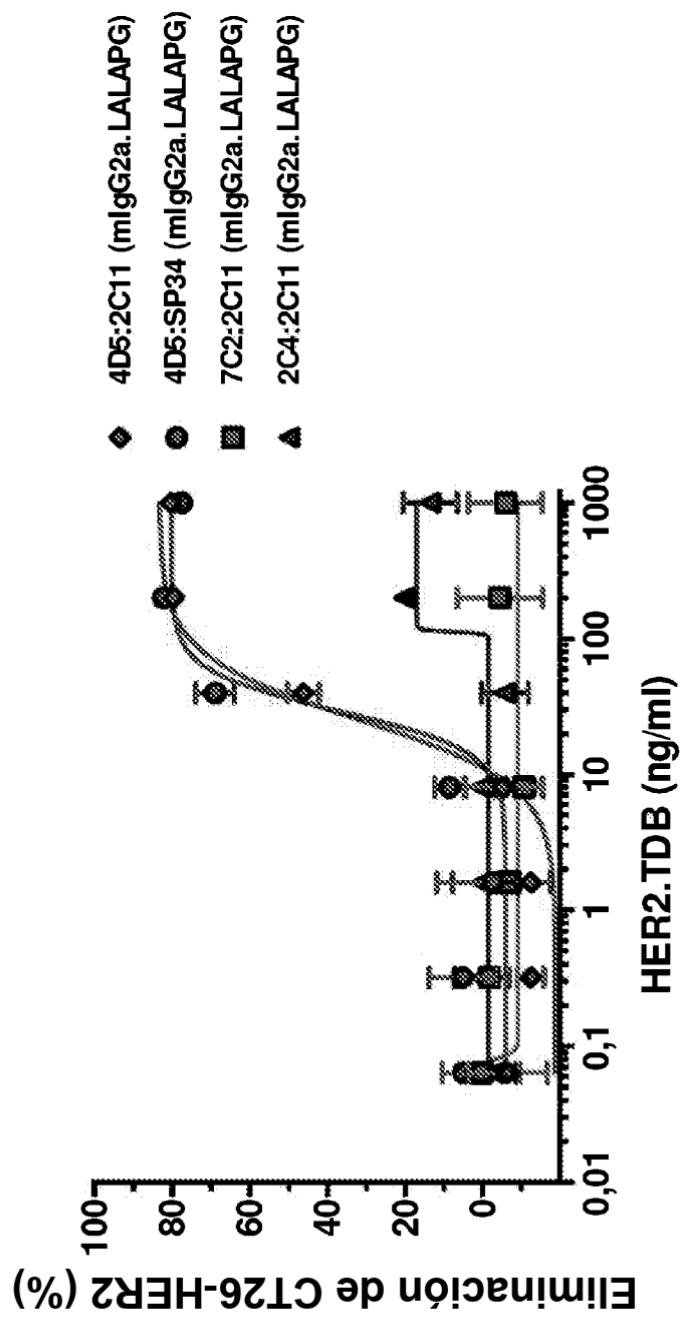


Figura 85

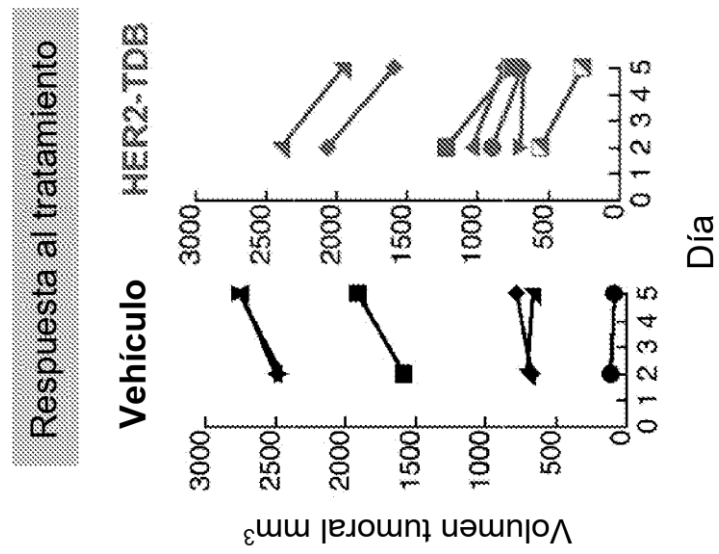
Brazo de CD3	K _D Monov. (nM, biacore)	Reactividad
38E4v1 humanizado	1,3	hu, cino
38E4 murino	0,75	hu, cino
SP34 murino	1,9	hu, cino
40G5c humanizado	51	hu, cino
2C11	22	ratón

Figura 86

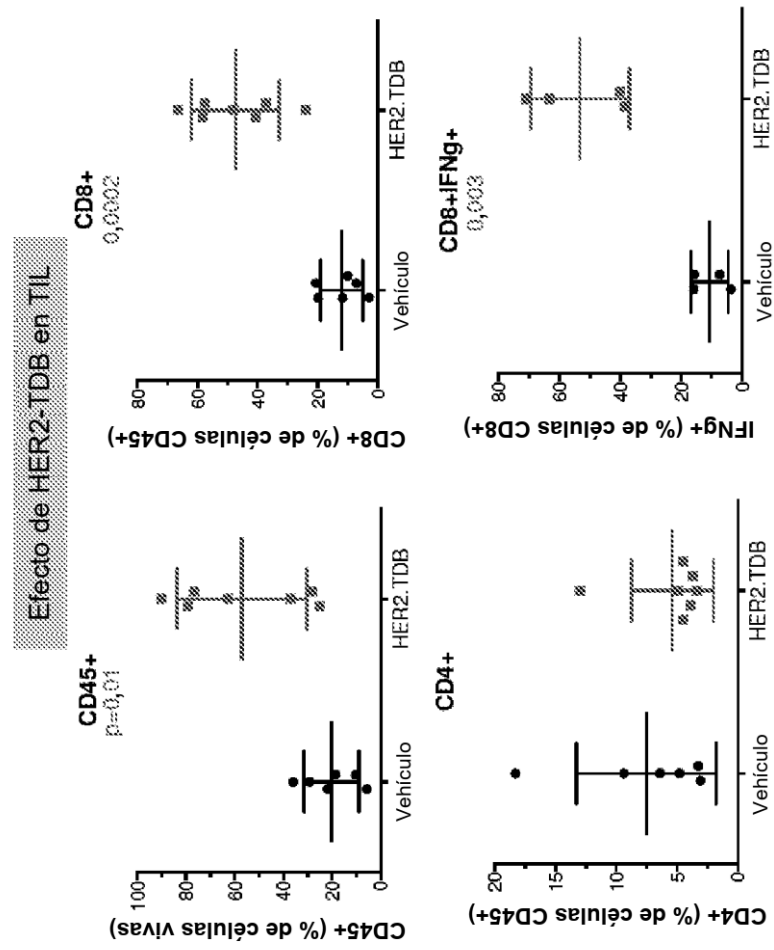


Figuras 87A-87B

A

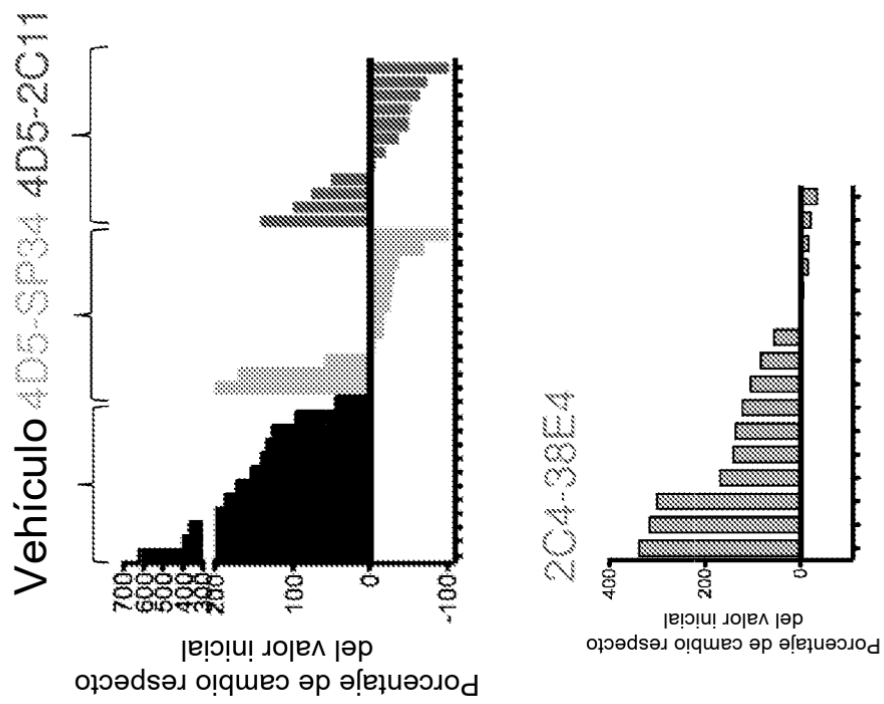


B

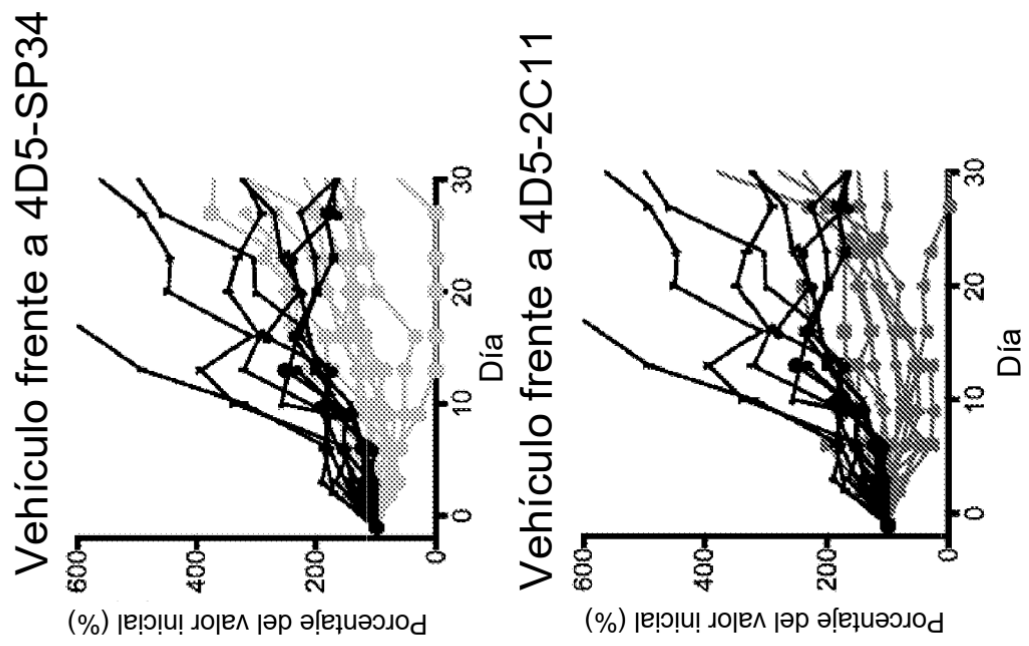


Figuras 88A-88B

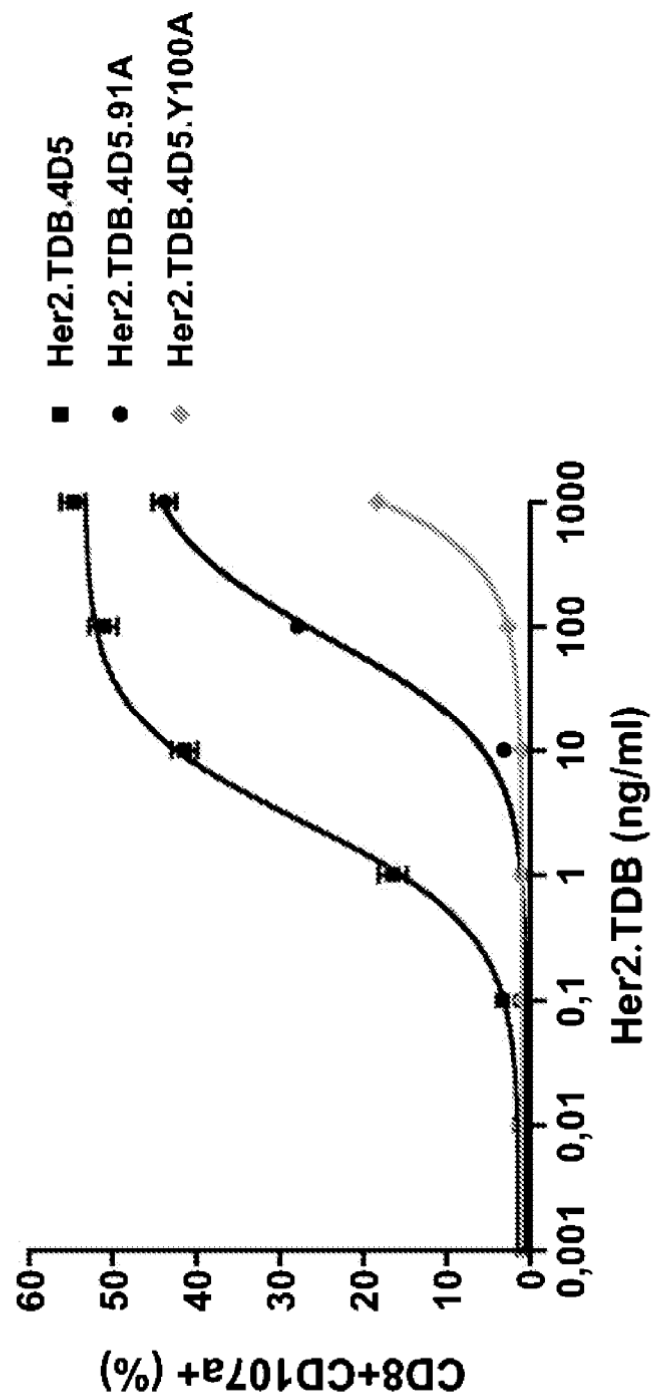
A



B



Figuras 89



Células efectoras: linfocitos T CD8+

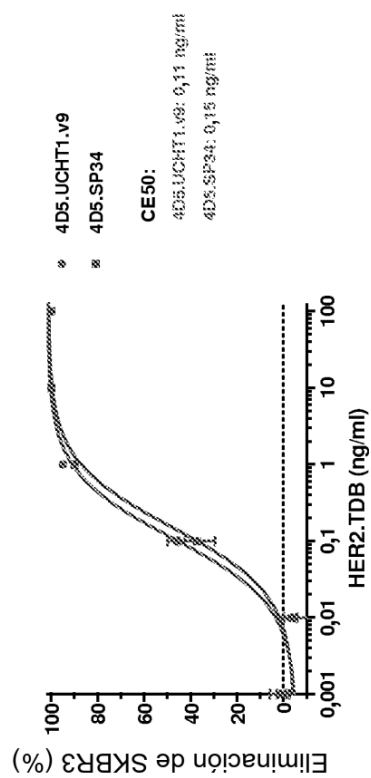
Células diana: SKBR3

Relación E:T = 3:1

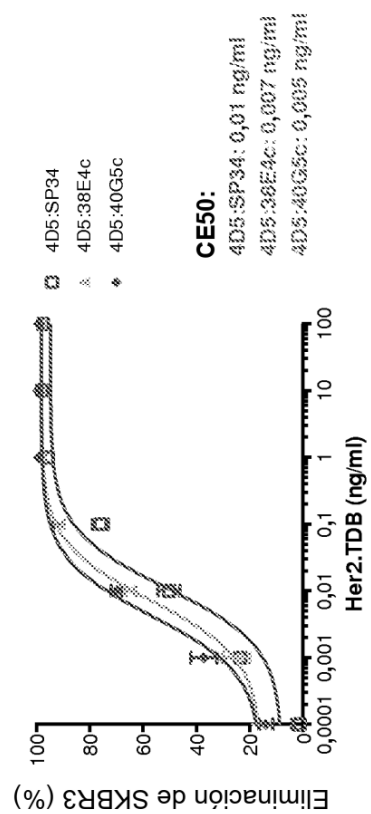
Tiempo: 24 horas

Figuras 90A-90C

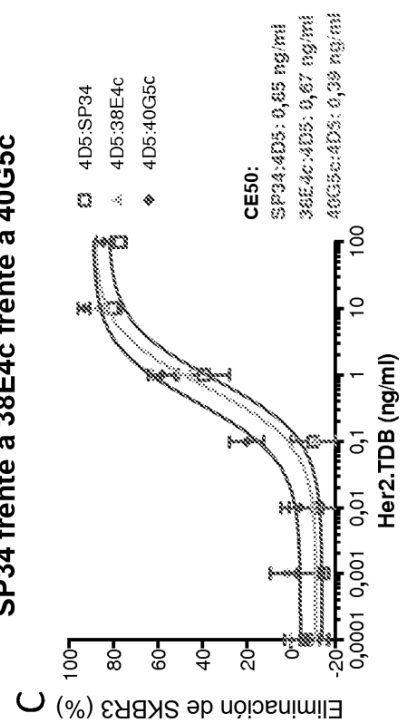
A UCHT1 frente a SP34



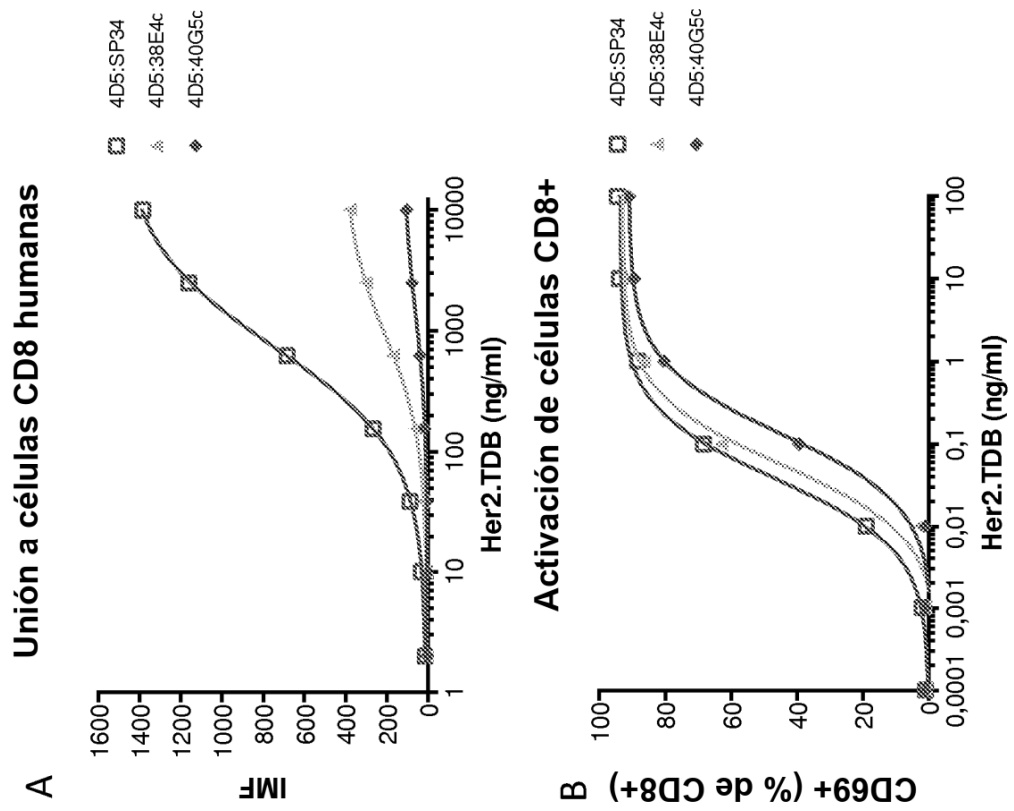
B SP34 frente a 38E4c frente a 40G5c



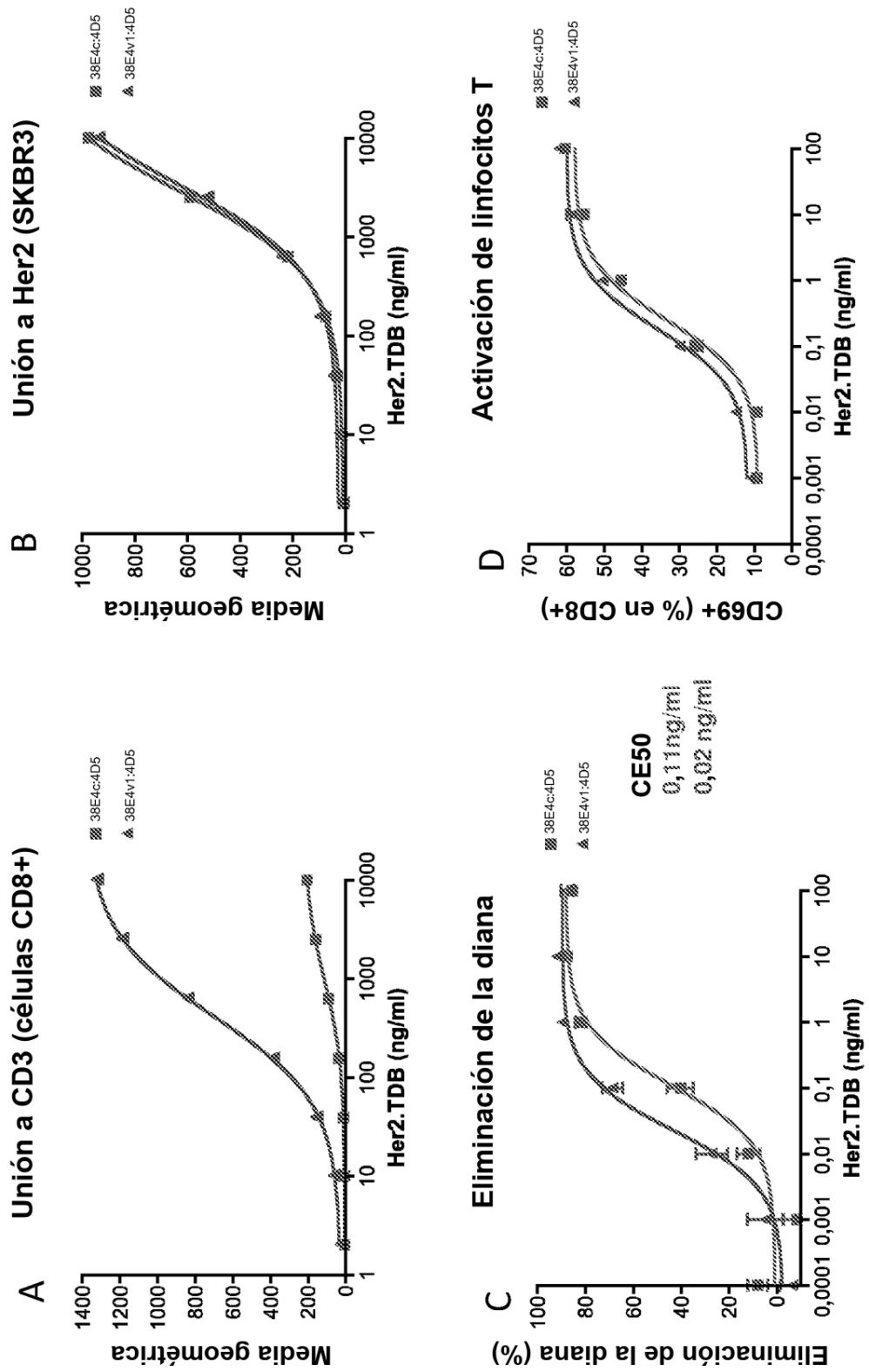
C SP34 frente a 38E4c frente a 40G5c



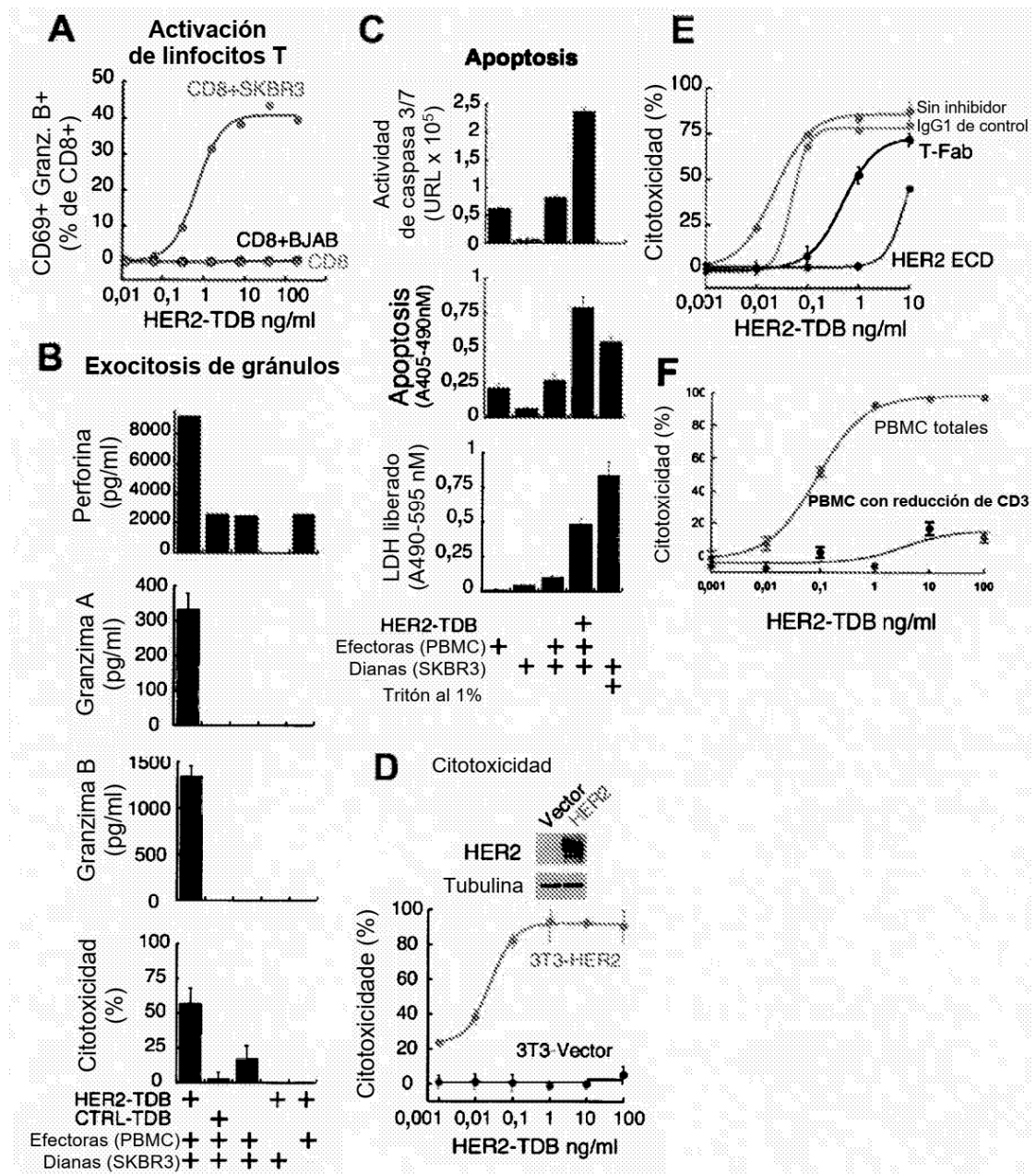
Figuras 91A-91B



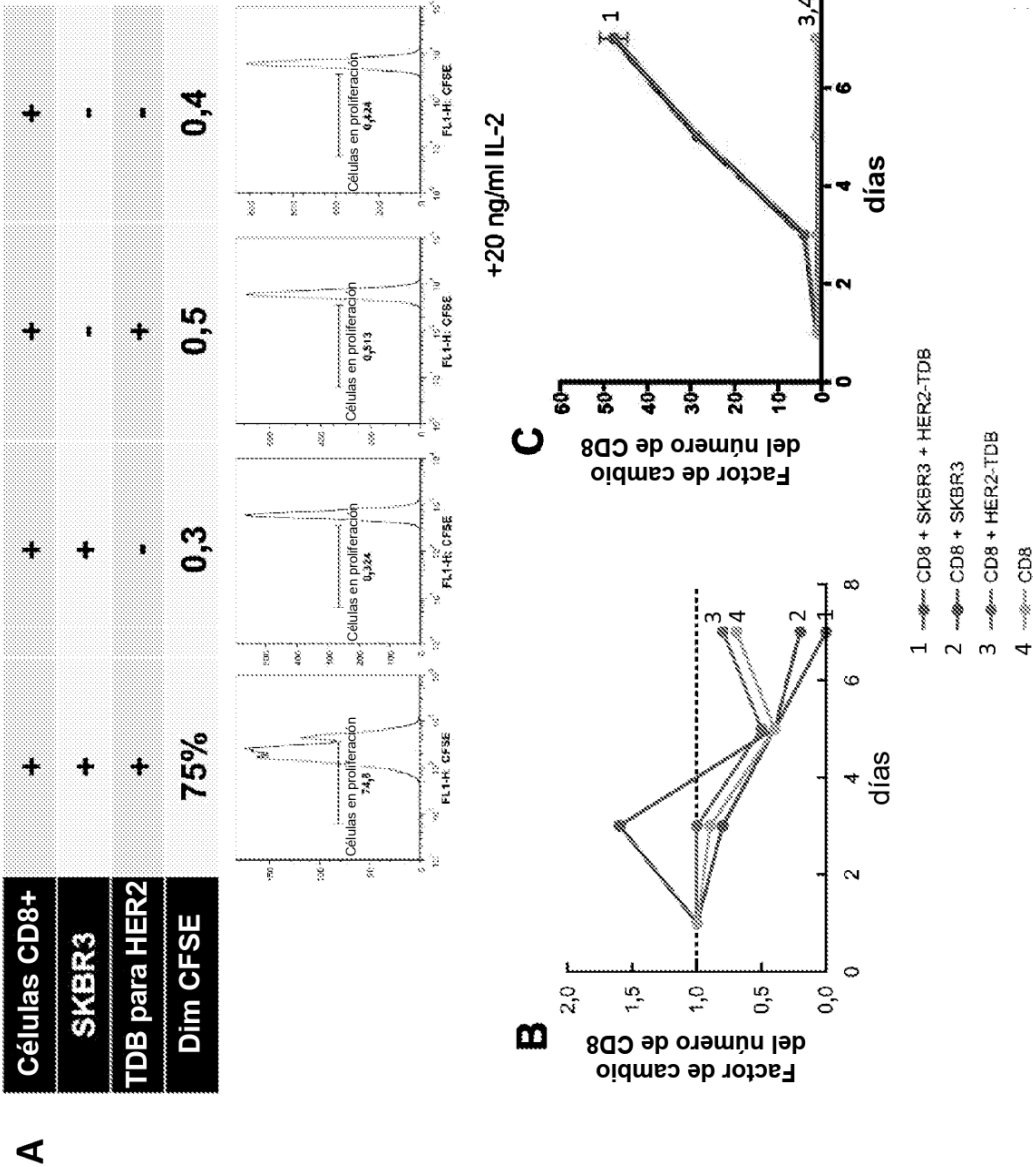
Figuras 92A-92D



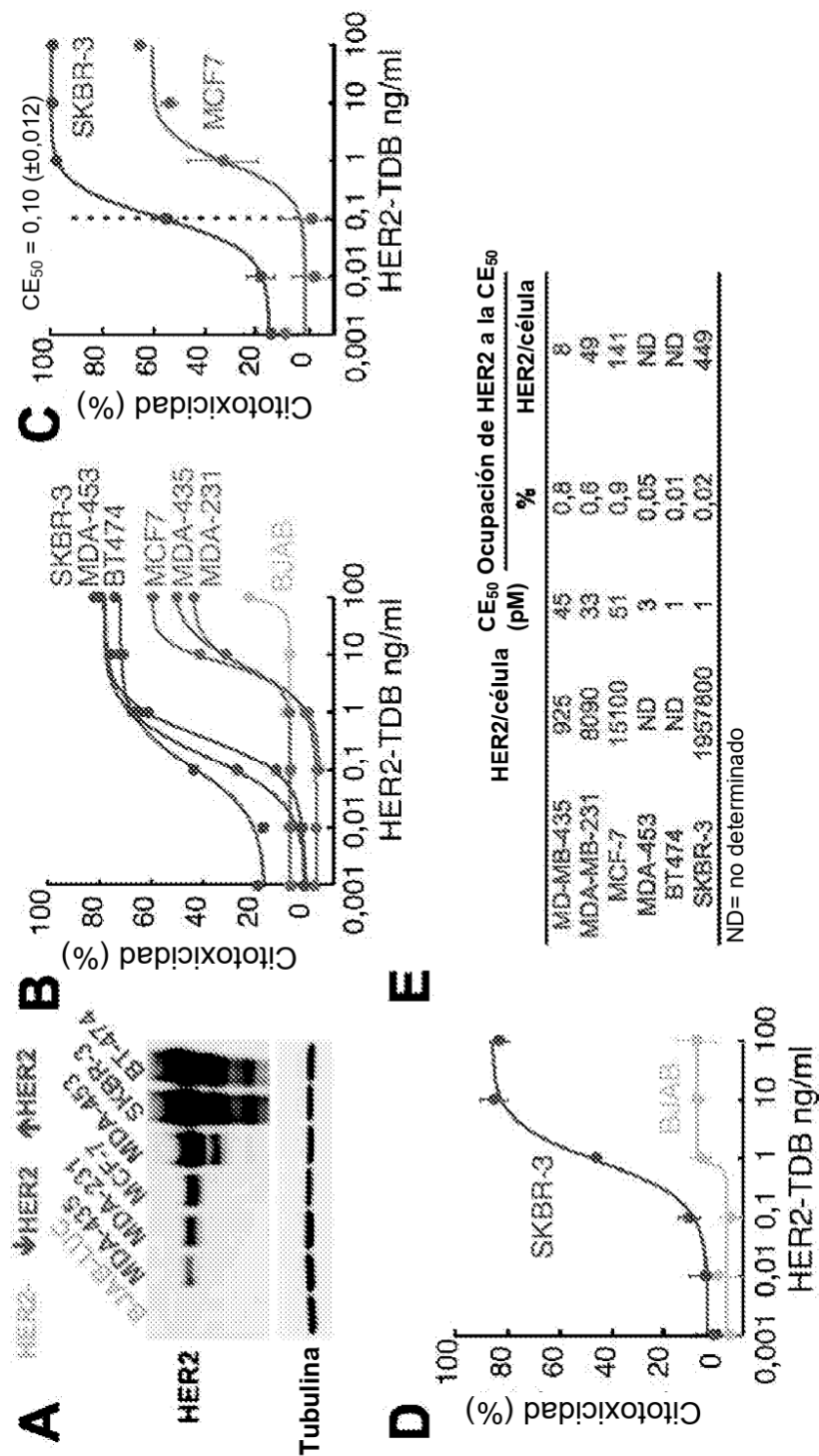
Figuras 93A-93F



Figuras 95A-95C



Figuras 96A-96E



Figuras 97A-97C

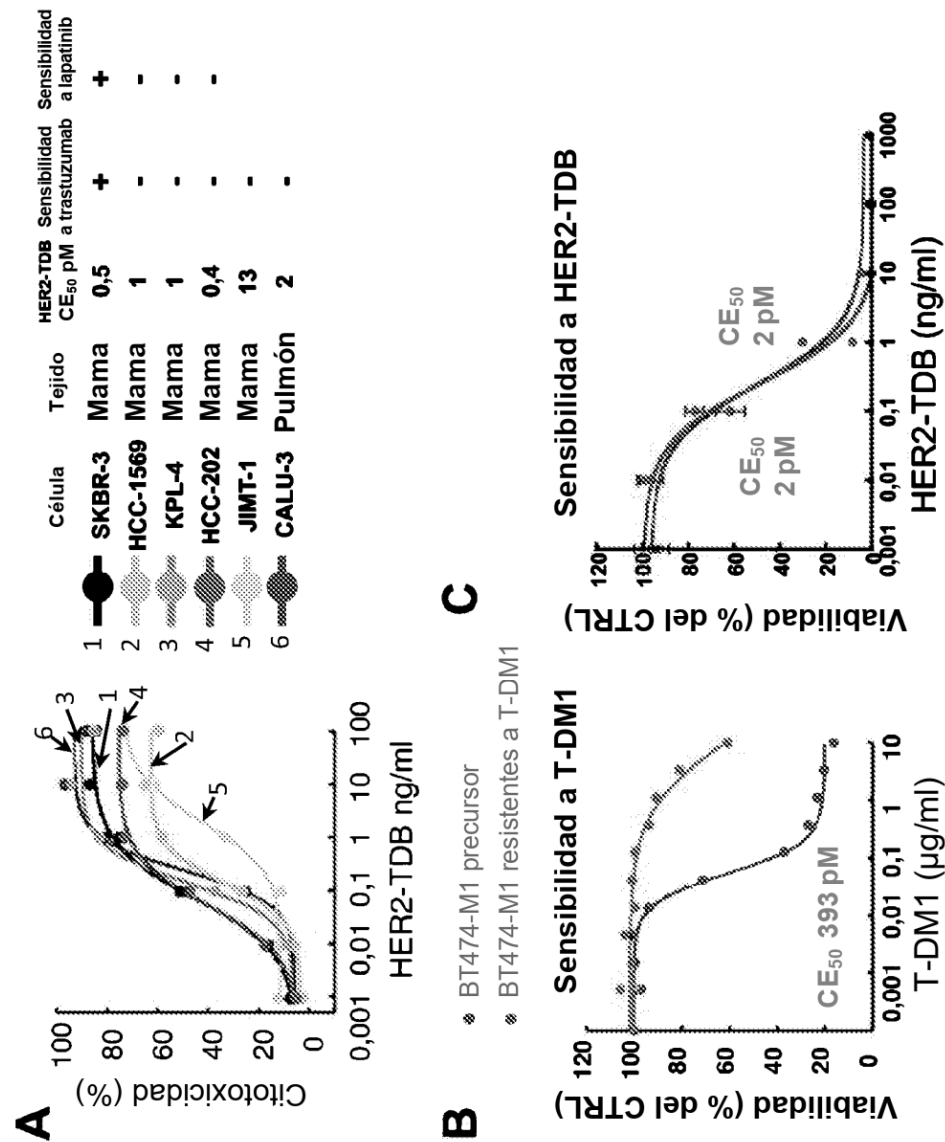
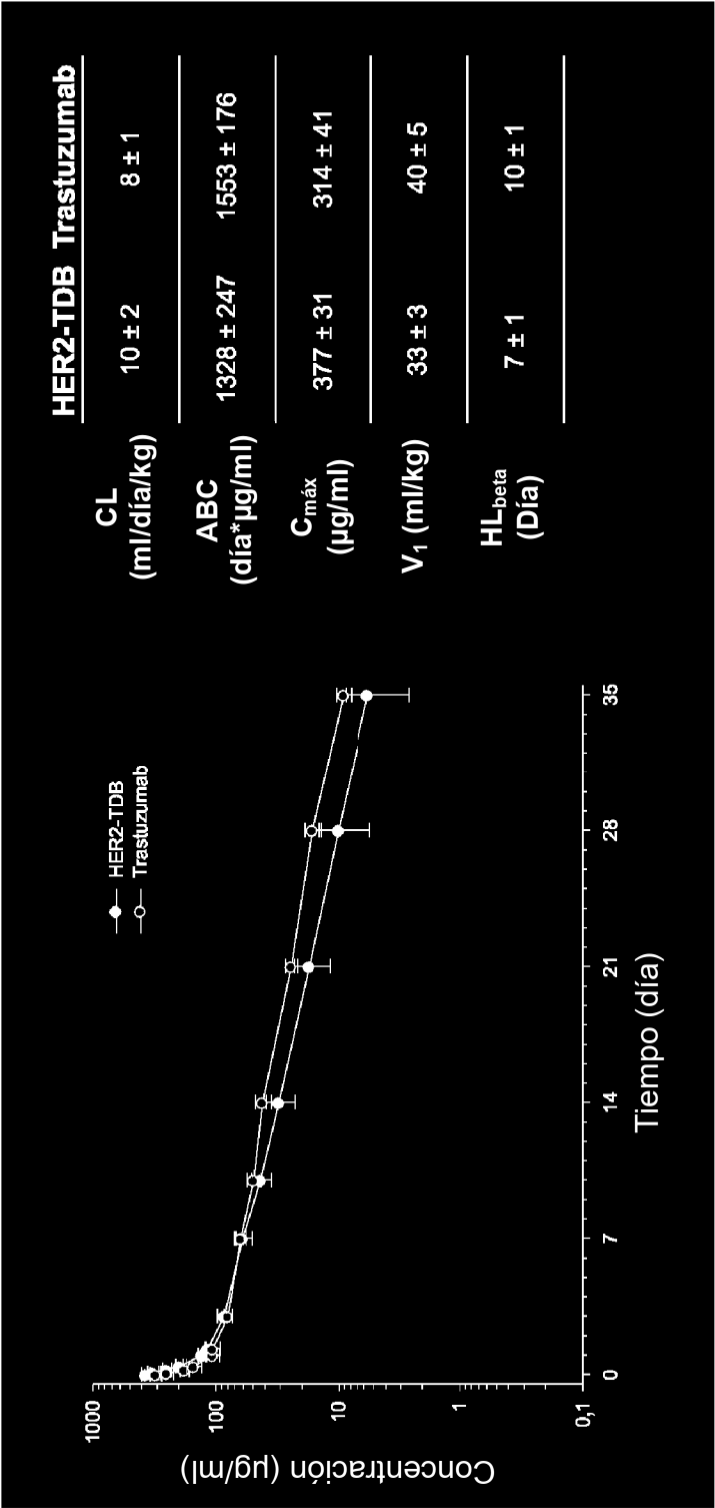
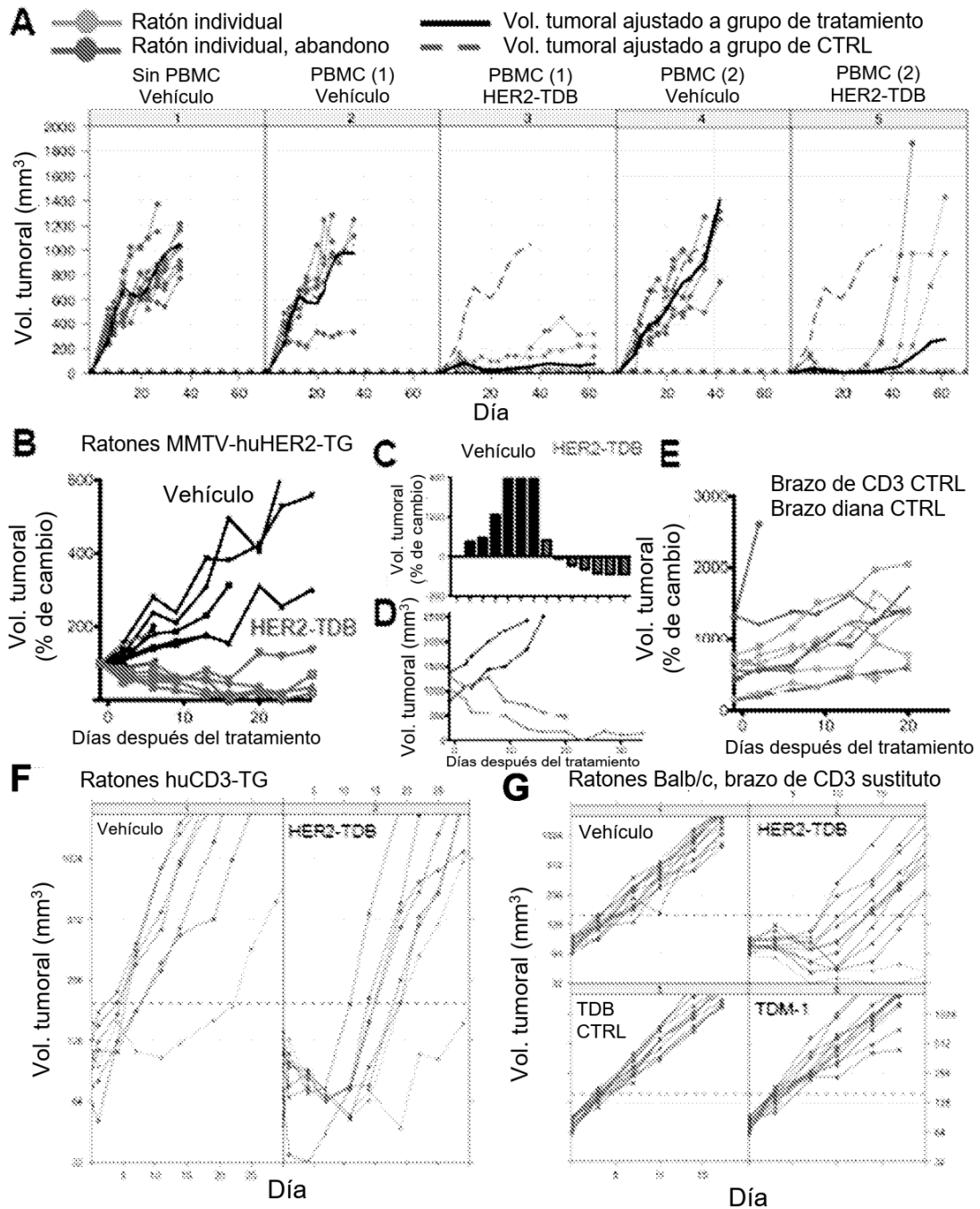


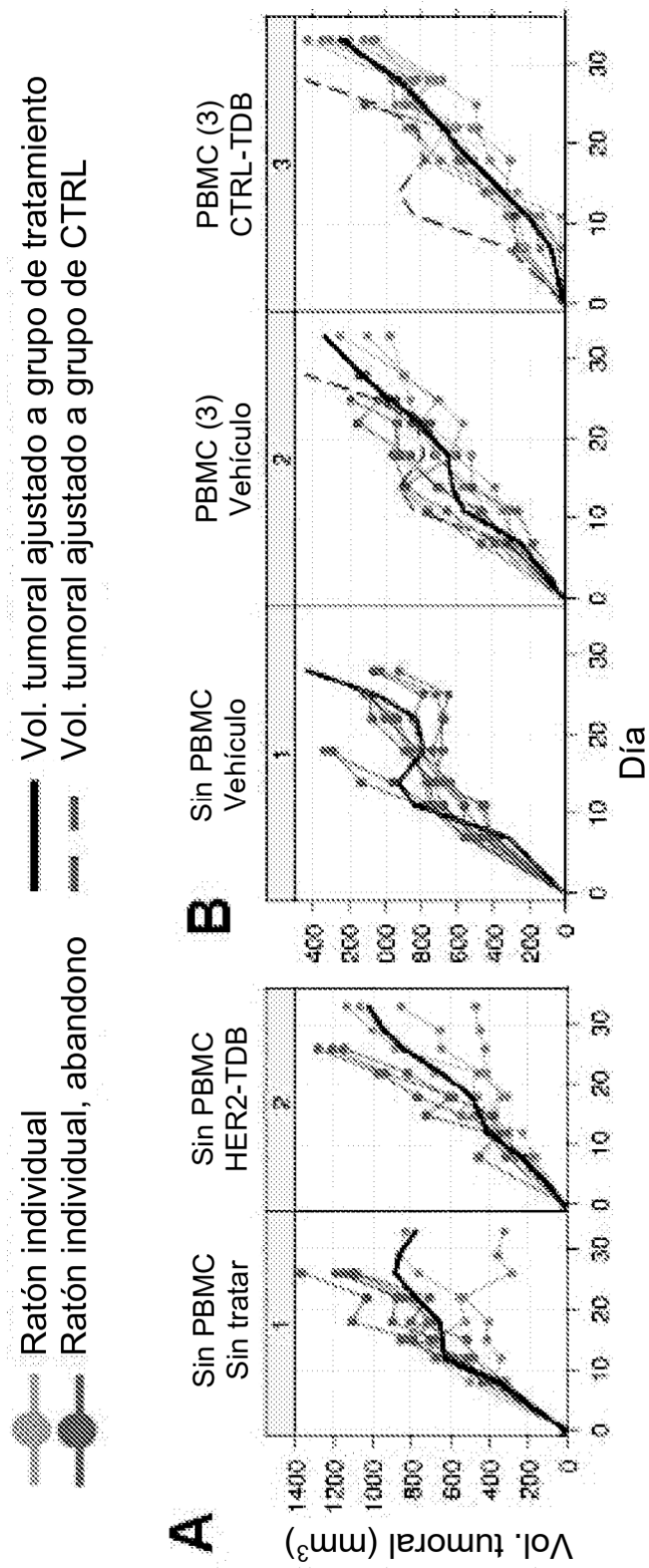
Figura 98



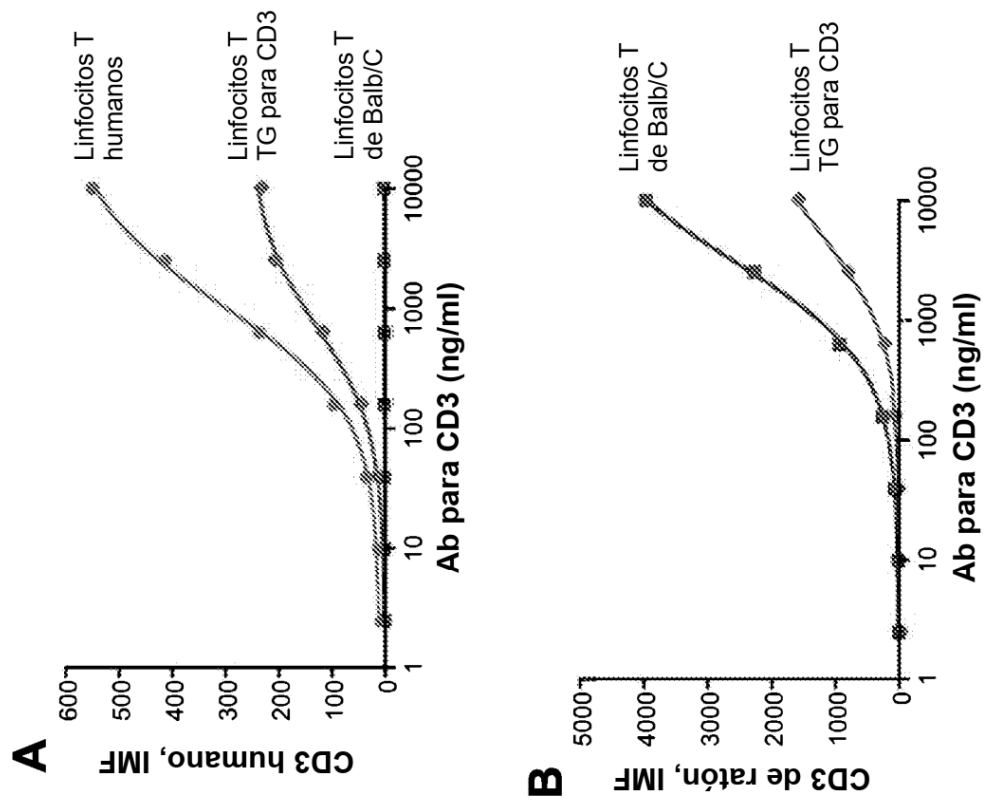
Figuras 99A-99G



Figuras 100A-100B



Figuras 101A-101B



Figuras 102A-102B

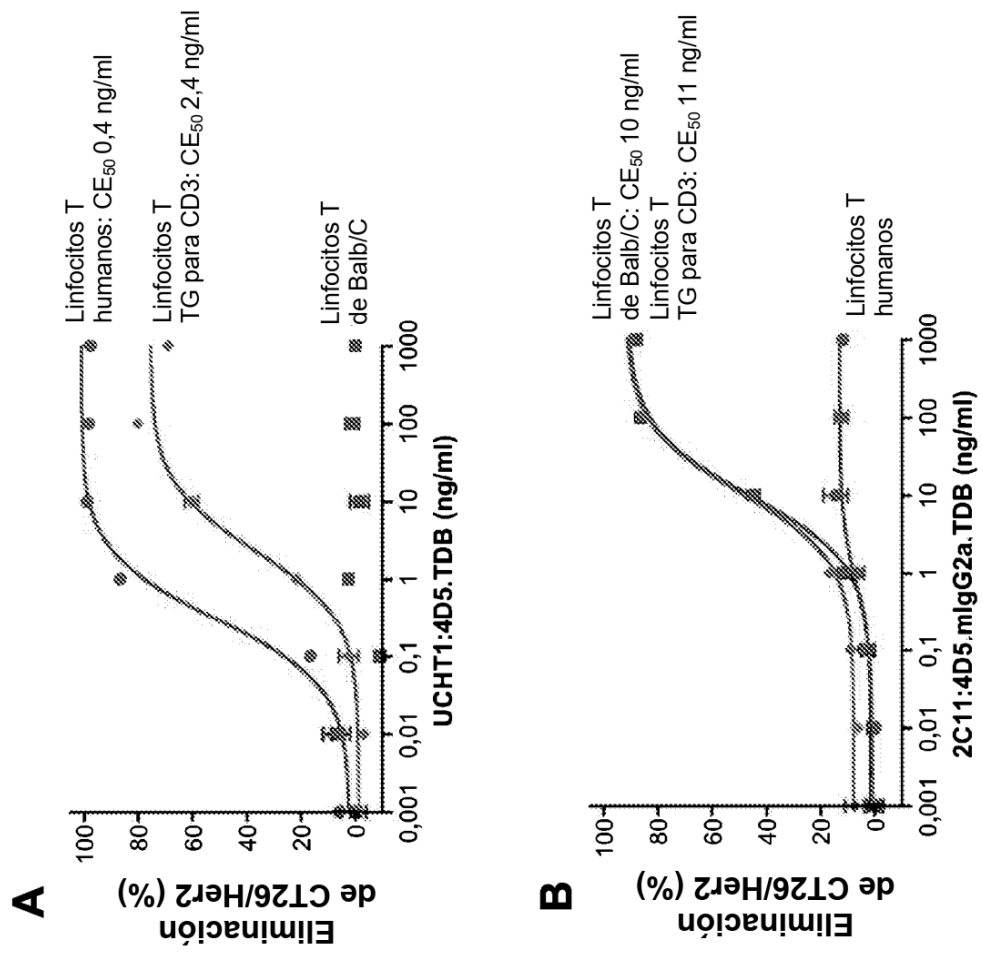


Figura 103

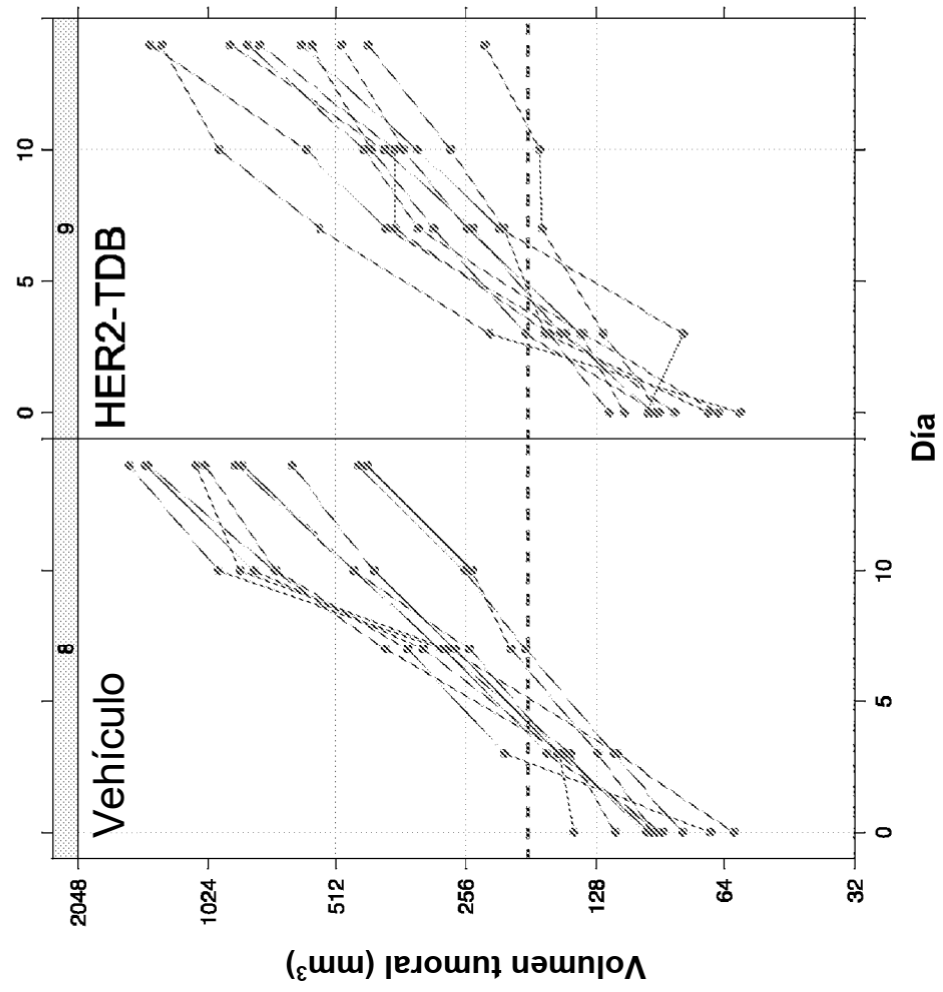


Figura 104

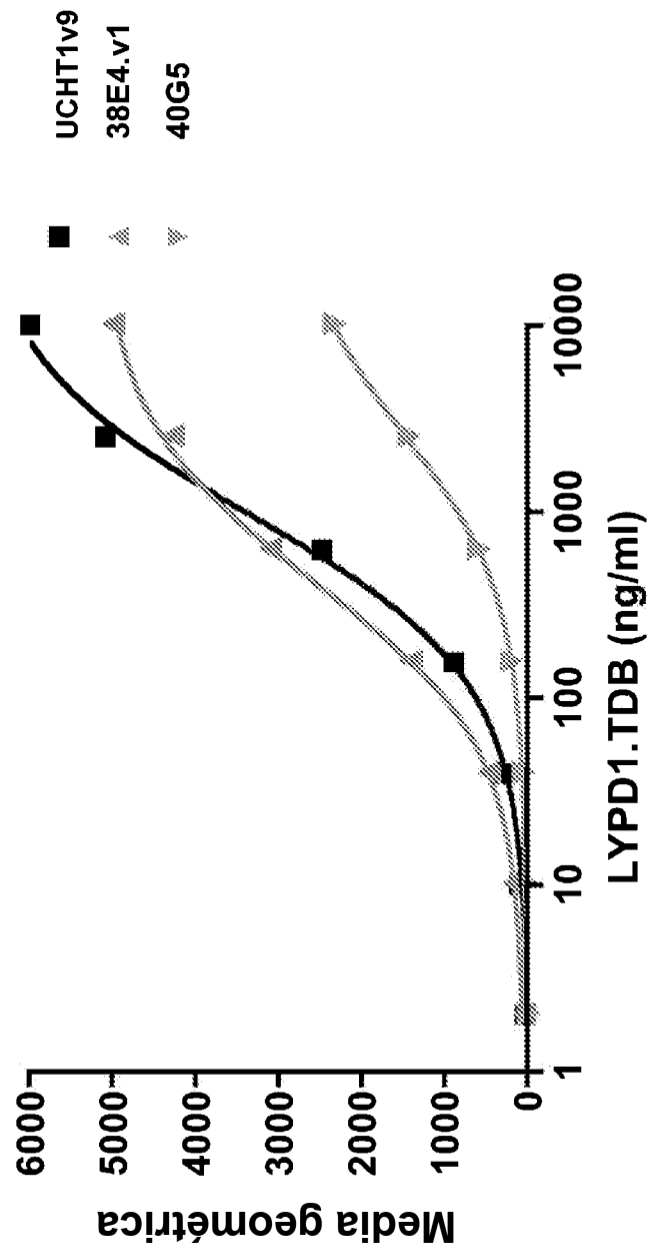
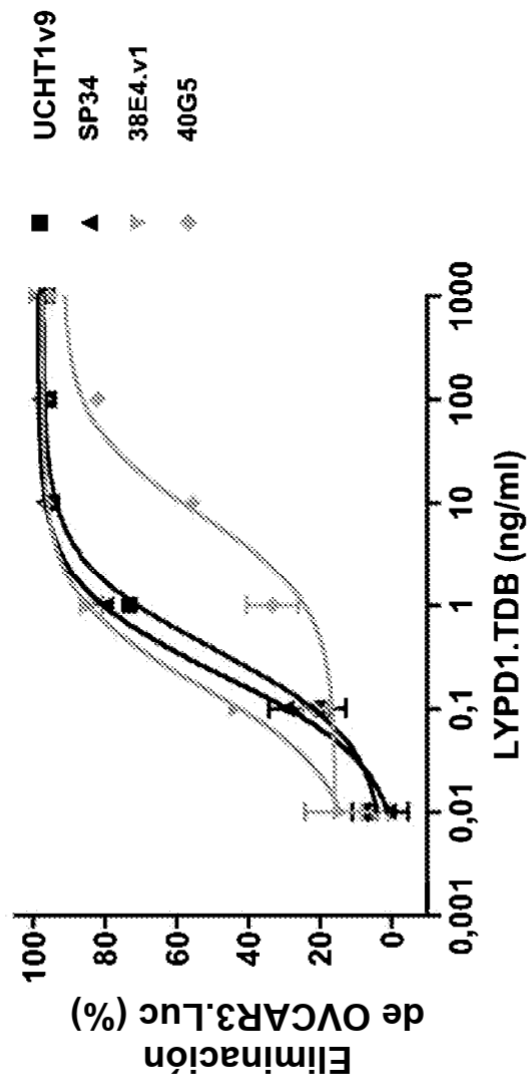


Figura 105



CE50:

H6:UCHT1.v9: 2,5 pM

H6:SP34: 1,4 pM

H6:38E4.v1: 1,1 pM

H6:40G5: 51,6 pM

Figura 106

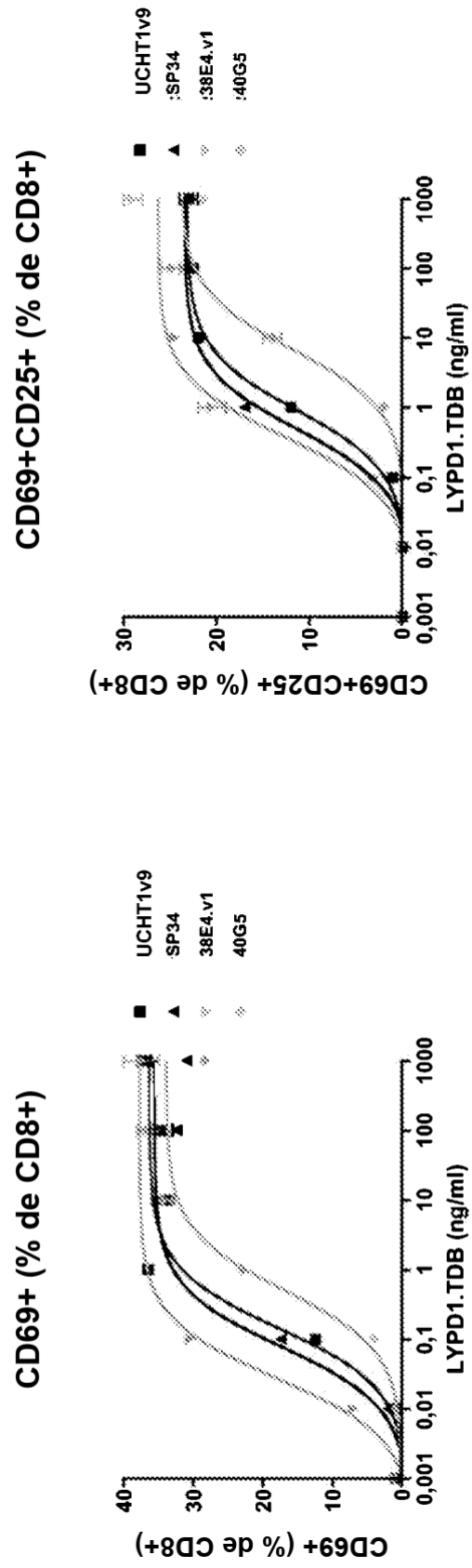


Figura 107

Región variable de cadena ligera de anti-RET41205.v6

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASKSISKYLA**WYQQKPGKANKLLIS**SGSTLQS**GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFAT
YYC**QQHNEYPWTF**FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:620)

Región variable de cadena pesada de anti-RET41205.v6

EVQLVESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSIT**SDYVWN**WIRQPPGKGLEWIG**YIHYSGGTSYNPSLKS**RVVTISRDTSKNQFSLKLS
SVTAADTAVYYCAR**GNYDWAFA**YWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:619)

Figuras 108A-108B

