

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 995 596**

(51) Int. Cl.:

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

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.06.2017 PCT/US2017/037555**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **21.12.2017 WO17218707**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2017 E 17752505 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2024 EP 3468586**

(54) Título: **Anticuerpos biespecíficos inhibidores de puntos de control**

(30) Prioridad:

**14.06.2016 US 201662350145 P
22.06.2016 US 201662353511 P
10.11.2016 US 201662420500 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.02.2025

(73) Titular/es:

**XENCOR, INC. (100.00%)
465 North Halstead Street Suite 200
Pasadena, CA 91107, US**

(72) Inventor/es:

**BERNETT, MATTHEW;
MOORE, GREGORY;
DESJARLAIS, JOHN;
HEDVAT, MICHAEL;
BONZON, CHRISTINE;
NISTHAL, ALEX y
MUCHHAL, UMESH, S.**

(74) Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

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

ES 2 995 596 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 biespecíficos inhibidores de puntos de control

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

Antecedentes de la invención

10 Los receptores de punto de control como CTLA-4, PD-1 (muerte celular programada 1), TIM-3 (inmunoglobulina de células T y dominio de mucina 3), LAG-3 (gen de activación de linfocitos 3), TIGIT (inmunorreceptor de células T con dominios Ig e ITIM) y otros, inhiben la activación, proliferación y/o actividades efectoras de las células T y otros tipos celulares. Guiados por la hipótesis de que los receptores de los puntos de control suprimen la respuesta endógena de las células T contra las células tumorales, los estudios preclínicos y clínicos de anticuerpos anti-CTLA4 y anti-PD1, incluidos nivolumab, pembrolizumab, ipilimumab y tremelimumab, han demostrado que el bloqueo de los puntos de control produce respuestas antitumorales impresionantes, estimulando a las células T endógenas para que ataquen a las células tumorales, lo que conduce a remisiones del cáncer a largo plazo en una fracción de pacientes con diversas neoplasias malignas. Por desgracia, solo un subgrupo de pacientes responde a estas terapias, con tasas de respuesta que suelen oscilar entre el 10 y el 30 %, y a veces superiores, para cada monoterapia, dependiendo de la indicación y de otros factores. La combinación terapéutica de estos agentes, por ejemplo ipilimumab más nivolumab, conduce a tasas de respuesta aún mayores, cercanas al 60 % en algunos casos. Los estudios preclínicos han mostrado sinergias adicionales entre anticuerpos anti-PD-1 y/o anticuerpos anti-CTLA-4 con el bloqueo de receptores de punto de control identificados más recientemente, incluidos LAG-3, TIM-3, BTLA y TIGIT. Aunque el potencial del bloqueo de múltiples puntos de control es muy prometedor, se espera que la terapia combinada con dichos agentes conlleve una elevada carga financiera. Además, las toxicidades autoinmunitarias de las terapias combinadas, por ejemplo nivolumab más ipilimumab, son significativamente elevadas en comparación con la monoterapia, lo que hace que muchos pacientes interrumpan el tratamiento.

30 Varios estudios (Ahmadzadeh y col., Blood 114:1537 (2009), Matsuzaki y col., PNAS 107(17):7875-7880 (2010), Fourcade y col., Cancer Res. 72(4):887-896 (2012) y Gros y col., J. Clinical Invest. 124(5):2246 (2014)) que examinan los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) han demostrado que los TIL suelen expresar múltiples receptores de puntos de control. Además, es probable que los TIL que expresan múltiples puntos de control sean de hecho los más reactivos al tumor. Por el contrario, es más probable que las células T reactivas no tumorales de la periferia expresen un único punto de control. Es probable que el bloqueo de los puntos de control con anticuerpos monoespecíficos de longitud completa no sea discriminitorio con respecto a la supresión de las células TIL reactivos al tumor frente a las células T de expresión única reactivos al autoantígeno que se supone que contribuyen a las toxicidades autoinmunitarias. El documento WO2014/209804 describe un anticuerpo biespecífico monocatenario para CTLA-4 y PD-1. El documento WO2015/103072 describe un anticuerpo biespecífico, a saber, una inmunoglobulina Fab en tandem anti-CTLA-4/PD-1. Ott y col. (DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0143) describe un bloqueo de CTLA-4 y PD-1/PD-L1 como nueva realización immunoterapéutica en pacientes con melanoma. Spranger y col. (DOI: 10.1186/2051-1426-2-3) describe que el mecanismo de rechazo tumoral con dobletes de CTLA-4, PD-1/PD-L1 o bloqueo de IDO implica el restablecimiento de la producción de IL-2 y la proliferación de células T CD8+ directamente dentro del microentorno tumoral. Cualquier referencia a un método de tratamiento en el cuerpo humano o animal debe interpretarse como sustancias o composiciones para su uso en dichos tratamientos.

45 **I. Breve resumen de la invención**

La invención es un anticuerpo heterodimérico compuesto por:

- 50 a) un primer monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º: 23576;
- b) un segundo monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º: 23581; y
- c) un tercer monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º: 23591.

55 **II. Breve descripción de los dibujos**

La invención se define en las reivindicaciones. Cualquiera de las figuras siguientes que no entre en el ámbito de las reivindicaciones no forma parte de la invención y se proporciona únicamente a efectos comparativos.

60 Las figuras 1A a I muestran varios formatos de los anticuerpos descritos. El primero es el formato "abreboteñas", con un primer y un segundo dominio de unión antiantígeno. Además, se muestran mAb-Fv, mAb-scFv, Central-scFv, Central-Fv, central-scFv de un brazo, un scFv-mAb, scFv-mAb y un formato scFv dual. Para todos los dominios scFv representados, pueden ser de N a carboxiloterminal variable pesado-(enlazador opcional)-variable ligero, o lo contrario. Además, para el scFv-mAb armado, el scFv puede unirse al aminoterminal de un monómero de cadena pesada o al aminoterminal de la cadena ligera.

La figura 2 (Fig. 2A, 2B, 2C y 2D) representa las secuencias de antígenos para una serie de antígenos de uso en la descripción, incluyendo tanto humanos como de macaco cangrejero en muchos casos, para facilitar el desarrollo de dominios de unión a antígenos que se unen a ambos para facilitar el desarrollo clínico.

5 Las figuras 3A-3F muestran pares útiles de conjuntos de variantes de heterodimerización (incluidas las variantes de sesgo y pl). En la figura 3E, hay variantes para las que no hay variantes de "monómero 2" correspondientes; Se trata de variantes de pl que pueden utilizarse solas en cualquiera de los monómeros, o incluidas en el lado Fab de un abrebotellas, por ejemplo, y puede utilizarse un enlazador scFv cargado apropiado en el segundo monómero que utiliza un scFv como segundo dominio de unión a antígeno. En la figura 7 se muestran enlazadores cargados adecuados.

10 La figura 4 muestra una lista de regiones constantes de anticuerpos de variantes isostéricas y sus respectivas sustituciones. pl_(-) indica variantes de pl más bajo, mientras que pl_(+) indica variantes de pl más alto. Estas pueden combinarse opcional e independientemente con otras variantes de heterodimerización de la descripción (y también 15 con otros tipos de variantes, como se describe en la presente memoria).

15 La figura 5 representa variantes de supresión útiles que suprimen la unión a FcγR (a veces denominadas variantes "de desactivación génica" o "KO"). Generalmente, las variantes de supresión se encuentran en ambos monómeros, aunque en algunos casos pueden estar en un solo monómero.

20 La figura 6 muestra dos ejemplos particularmente útiles, que pueden utilizarse tanto para el formato de la figura 1A como para el de la figura 1F. Para el formato de la figura 1A, los componentes "no Fv" de esta realización se muestran en la figura 37A, aunque también se pueden utilizar los otros formatos (y el de la figura 38 también).

25 La figura 7 representa varios enlazadores de scFv cargados que son útiles para aumentar o disminuir el pl de anticuerpos heterodiméricos que utilizan uno o más scFv como componente. El enlazador positivo (+H) encuentra un uso particular en la presente memoria, particularmente con las secuencias anti-CD3 vI y vh mostradas en la presente memoria. Un único enlazador scFv del estado de la técnica con una sola carga se conoce como "Whitlow", de Whitlow y col., Protein Engineering 6(8):989-995 (1993). Cabe señalar que este enlazador se utilizó para reducir la agregación 30 y mejorar la estabilidad proteolítica en los scFv.

35 La figura 8 representa una lista de variantes de Fc de sesgo del heterodímero modificadas con rendimientos de heterodímeros (determinados por HPLC-CIEX) y estabilidades térmicas (determinadas por DSC). La estabilidad térmica no determinada se indica con "n.d.".

40 Las figuras 9A a E muestran un número selecto de ABD dirigido contra PD-1, con ABD anti-PD-1 adicionales enumerados como las Id. de sec. n.º: 6209-11464, Id. de sec. n.º: 11465-17134, Id. de sec. n.º: 33003-33072, Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146. Las CDR están subrayadas, el enlazador scFv está doblemente subrayado (en las secuencias, el enlazador scFv es un enlazador scFv (GKPGS)₄ cargado positivamente (Id. de sec. n.º: 37755), aunque como apreciarán los expertos en la materia, este enlazador puede sustituirse por otros enlazadores, incluidos enlazadores no cargados o cargados negativamente, algunos de los cuales se representan en la figura 7), y las barras indican el/los borde(s) de los dominios variables. Además, la convención de nomenclatura ilustra la orientación del scFv de aminoterminal a carboxiloterminal. Es decir, "H1.279 _L1.194" muestra que la orientación es vh-scFv enlazador-vI (de aminoterminal a carboxiloterminal, con enlazadores de dominio opcionales en uno o ambos lados, dependiendo del formato utilizado), aunque estas secuencias también pueden utilizarse en la orientación opuesta, (de aminoterminal a carboxiloterminal) vI-enlazador-vh. Del mismo modo, "L1.194_H1.279" muestra que la orientación es vI-scFv enlazador-vh (de aminoterminal a carboxiloterminal, de nuevo con enlazadores de dominio opcionales), con la orientación opuesta también incluida dentro de la invención. Como se señala en la 45 presente memoria y es cierto para cada secuencia que contiene CDR, la identificación exacta de las ubicaciones de las CDR puede ser ligeramente diferente dependiendo de la numeración utilizada como se muestra en la tabla 1, y por lo tanto en la presente memoria se incluyen no solo las CDR que están subrayadas sino también las CDR incluidas dentro de los dominios vh y vI utilizando otros sistemas de numeración. Además, como para todas las secuencias de las figuras, estas secuencias vh y vI pueden utilizarse tanto en formato scFv como en formato Fab.

55 Las figuras 10A a PP muestran una serie de ABD dirigido contra CTLA-4, con ABD anti-CTLA-4 adicionales enumerados como las Id. de sec. n.º: 21-2918, Id. de sec. n.º: 2919-6208, Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416. Las CDR están subrayadas, el enlazador scFv está doblemente subrayado (en las secuencias, el enlazador scFv es un enlazador scFv (GKPGS)₄ cargado positivamente (Id. de sec. n.º: 37755), aunque como apreciarán los expertos en la materia, este enlazador puede sustituirse por otros enlazadores, incluidos enlazadores 60 no cargados o cargados negativamente, algunos de los cuales se representan en la figura 7), y las barras indican el/los borde(s) de los dominios variables. Como en el caso anterior, la convención de nomenclatura ilustra la orientación del scFv de aminoterminal a carboxiloterminal; en las secuencias enumeradas en esta figura, todas están orientadas como vh-scFv enlazador-vI (de aminoterminal a carboxiloterminal), aunque estas secuencias también pueden utilizarse en la orientación opuesta, (de aminoterminal a carboxiloterminal) vI-enlazador-vh; Además, algunas de las secuencias en las Id. de sec. n.º: 21-2918, Id. de sec. n.º: 2919-6208, Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 65 están en la orientación opuesta. Como se señala en la presente memoria y es cierto para cada secuencia que contiene

CDR, la identificación exacta de las ubicaciones de las CDR puede ser ligeramente diferente dependiendo de la numeración utilizada como se muestra en la tabla 1, y por lo tanto en la presente memoria se incluyen no solo las CDR que están subrayadas sino también las CDR incluidas dentro de los dominios vh y vl utilizando otros sistemas de numeración. Además, como para todas las secuencias de las figuras, estas secuencias vh y vl pueden utilizarse tanto en formato scFv como en formato Fab. En particular, muchas de las figuras incluyen el identificador XENP tanto para el formato scFv como para el formato Fab; véase por ejemplo la figura 10A, que muestra que XENP19235 es la molécula que utiliza el formato Fab y XENP19769 es la molécula scFv.

Las figuras 11A a N muestran una serie de ABD dirigido contra LAG-3, con ABD anti-LAG-3 adicionales enumerados como las Id. de sec. n.º: 17135-20764, Id. de sec. n.º: 36819-36962, Id. de sec. n.º: 35417-35606, Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002. Las CDR están subrayadas, el enlazador scFv está doblemente subrayado (en las secuencias, el enlazador scFv es un enlazador scFv (GKPGS)₄ cargado positivamente, aunque como apreciarán los expertos en la materia, este enlazador puede sustituirse por otros enlazadores, incluidos enlazadores no cargados o cargados negativamente, algunos de los cuales se representan en la figura 7), y las barras indican el/los borde(s) de los dominios variables. Como en el caso anterior, la convención de nomenclatura ilustra la orientación del scFv de aminoterminal a carboxiloterminal; en las secuencias enumeradas en esta figura, todas están orientadas como vh-scFv enlazador-vl (de aminoterminal a carboxiloterminal), aunque estas secuencias también pueden utilizarse en la orientación opuesta, (de aminoterminal a carboxiloterminal) vl-enlazador-vh; Además, algunas de las secuencias en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, Id. de sec. n.º: 36819-36962, Id. de sec. n.º: 35417-35606, Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 están en la orientación opuesta. Como se señala en la presente memoria y es cierto para cada secuencia que contiene CDR, la identificación exacta de las ubicaciones de las CDR puede ser ligeramente diferente dependiendo de la numeración utilizada como se muestra en la tabla 1, y por lo tanto en la presente memoria se incluyen no solo las CDR que están subrayadas sino también las CDR incluidas dentro de los dominios vh y vl utilizando otros sistemas de numeración. Además, como para todas las secuencias de las figuras, estas secuencias vh y vl pueden utilizarse tanto en formato scFv como en formato Fab.

Las figuras 12A a C muestran una serie de ABD dirigido contra BTLA, con ABD anti-BTLA adicionales enumerados como las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738. Las CDR están subrayadas, el enlazador scFv está doblemente subrayado (en las secuencias, el enlazador scFv es un enlazador scFv (GKPGS)₄ cargado positivamente, aunque como apreciarán los expertos en la materia, este enlazador puede sustituirse por otros enlazadores, incluidos enlazadores no cargados o cargados negativamente, algunos de los cuales se representan en la figura 7), y las barras indican el/los borde(s) de los dominios variables. Como en el caso anterior, la convención de nomenclatura ilustra la orientación del scFv de aminoterminal a carboxiloterminal; en las secuencias enumeradas en esta figura, todas están orientadas como vh-scFv enlazador-vl (de aminoterminal a carboxiloterminal), aunque estas secuencias también pueden utilizarse en la orientación opuesta, (de aminoterminal a carboxiloterminal) vl-enlazador-vh; Además, algunas de las secuencias en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 están en la orientación opuesta. Como se señala en la presente memoria y es cierto para cada secuencia que contiene CDR, la identificación exacta de las ubicaciones de las CDR puede ser ligeramente diferente dependiendo de la numeración utilizada como se muestra en la tabla 1, y por lo tanto en la presente memoria se incluyen no solo las CDR que están subrayadas sino también las CDR incluidas dentro de los dominios vh y vl utilizando otros sistemas de numeración. Además, como para todas las secuencias de las figuras, estas secuencias vh y vl pueden utilizarse tanto en formato scFv como en formato Fab.

Las figuras 13A a I muestran varios ABD dirigido contra TIM-3, con ABD anti-TIM-3 adicionales enumerados como las Id. de sec. n.º: 20765-20884, Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706. Las CDR están subrayadas, el enlazador scFv está doblemente subrayado (en las secuencias, el enlazador scFv es un enlazador scFv (GKPGS)₄ cargado positivamente, aunque como apreciarán los expertos en la materia, este enlazador puede sustituirse por otros enlazadores, incluidos enlazadores no cargados o cargados negativamente, algunos de los cuales se representan en la figura 7), y las barras indican el/los borde(s) de los dominios variables. Como en el caso anterior, la convención de nomenclatura ilustra la orientación del scFv de aminoterminal a carboxiloterminal; en las secuencias enumeradas en esta figura, todas están orientadas como vh-scFv enlazador-vl (de aminoterminal a carboxiloterminal), aunque estas secuencias también pueden utilizarse en la orientación opuesta, (de aminoterminal a carboxiloterminal) vl-enlazador-vh; Además, algunas de las secuencias en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 están en la orientación opuesta. Como se señala en la presente memoria y es cierto para cada secuencia que contiene CDR, la identificación exacta de las ubicaciones de las CDR puede ser ligeramente diferente dependiendo de la numeración utilizada como se muestra en la tabla 1, y por lo tanto en la presente memoria se incluyen no solo las CDR que están subrayadas sino también las CDR incluidas dentro de los dominios vh y vl utilizando otros sistemas de numeración. Además, como para todas las secuencias de las figuras, estas secuencias vh y vl pueden utilizarse tanto en formato scFv como en formato Fab.

La figura 14A-I representa las secuencias de aminoácidos de anticuerpos específicos anti-CTLA-4 X anti-PD-1 en el formato abrebotellas (Fab-scFv-Fc). Los anticuerpos se denominan utilizando en primer lugar la región variable Fab y en segundo lugar la región variable scFv, separadas por un guion, seguidas de la designación de la cadena (cadena pesada Fab-Fc, cadena pesada scFv-Fc o cadena ligera). Las CDR están subrayadas y las barras inclinadas indican los bordes de las regiones variables. El dominio scFv tiene diferentes orientaciones (de aminoterminal a carboxiloterminal) de vh-enlazador-vl o vl-enlazador-vh como se indica, aunque esto puede invertirse. Además, cada

secuencia descrita en la presente memoria puede incluir o excluir las variantes M428L/N434S en uno o preferiblemente ambos dominios Fc, lo que da lugar a una semivida más larga en suero.

La figura 15A-I muestra las secuencias de aminoácidos de anticuerpos biespecíficos específicos Fab-scFv-Fc anti-LAG-3 X anti-PD-1. Los anticuerpos se denominan utilizando en primer lugar la región variable Fab y en segundo lugar la región variable scFv, separadas por un guion, seguidas de la designación de la cadena (cadena pesada Fab-Fc, cadena pesada scFv-Fc o cadena ligera). Las CDR están subrayadas y las barras inclinadas indican los bordes de las regiones variables. Los dominios scFv tienen la orientación (de aminoterminal a carboxiloterminal) vi-enlazador-vh, aunque esto puede invertirse. Además, cada secuencia descrita en la presente memoria puede incluir o excluir las variantes M428L/N434S en uno o preferiblemente ambos dominios Fc, lo que da lugar a una semivida más larga en suero.

La figura 16 muestra las secuencias de aminoácidos de anticuerpos biespecíficos Fab-scFv-Fc específicos anti-BTLA X anti-PD-1. Los anticuerpos se denominan utilizando en primer lugar la región variable Fab y en segundo lugar la región variable scFv, separadas por un guion, seguidas de la designación de la cadena (cadena pesada Fab-Fc, cadena pesada scFv-Fc o cadena ligera). Las CDR están subrayadas y las barras inclinadas indican los bordes de las regiones variables. Los dominios scFv tienen la orientación (de aminoterminal a carboxiloterminal) vi-enlazador-vh, aunque esto puede invertirse. Además, cada secuencia descrita en la presente memoria puede incluir o excluir las variantes M428L/N434S en uno o preferiblemente ambos dominios Fc, lo que da lugar a una semivida más larga en suero.

La figura 17 muestra las secuencias de aminoácidos de anticuerpos biespecíficos específicos anti-LAG-3 X anti-CTLA-4 Fab-scFv-Fc. Los anticuerpos se denominan utilizando en primer lugar la región variable Fab y en segundo lugar la región variable scFv, separadas por un guion, seguidas de la designación de la cadena (cadena pesada Fab-Fc, cadena pesada scFv-Fc o cadena ligera). Las CDR están subrayadas y las barras inclinadas indican los bordes de las regiones variables. Los dominios scFv tienen la orientación (de aminoterminal a carboxiloterminal) vh-enlazador-vl, aunque esto puede invertirse. Además, cada secuencia descrita en la presente memoria puede incluir o excluir las variantes M428L/N434S en uno o preferiblemente ambos dominios Fc, lo que da lugar a una semivida más larga en suero.

La figura 18 muestra los resultados de algunos cribados de hibridomas anti-LAG-3. Se mezcló 1 µg de LAG-3-hlg humano en 10 µl con 50 µl de sobrenadante de hibridoma (diluido a 1:2, 8 veces en medio RPMI con 10 % de FBS) durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 40 µl de células Daudi o Ramos (que expresan endógenamente MHC-II) y se incubaron a 4 °C durante 30 minutos. A continuación, se lavaron las células y se incubaron con el anticuerpo secundario anti-Fc-Alexa647 humano durante 30 minutos. A continuación, se lavaron las células y se analizaron mediante FACS para Alexa647.

Las figuras 19A y B muestran ensayos de liberación de citocinas (A:IL-2, B: IFNy) tras la estimulación con SEB de PBMC humanas y el tratamiento con un anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 X anti-PD-1.

La figura 20A-C muestra los eventos CD45+ y CD8+ en el día 14 después de que las PBMC humanas se integraran en ratones NSG en el día 0 seguido de la administración de los artículos de prueba indicados en el día 1.

La figura 21A y B muestra la unión de células T en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB por anticuerpos químéricos generados a partir de hibridomas anti-TIM-3.

La figura 22 muestra algunos datos de ingeniería del dominio de unión a antígeno anti-TIM-3 de tres experimentos. Esto representa el código XENP para las realizaciones bivalentes, el clón derivado, las designaciones de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD, la constante de asociación y la constante de disociación frente al TIM-3 humano según las mediciones de Octet.

La figura 23A a N muestra algunos datos de ingeniería del dominio de unión a antígeno anti-PD-1. Esto representa el código XENP para las realizaciones bivalentes y scFv, la designación de los dominios de ingeniería vh y vl, la orientación scFv (de aminoterminal a carboxiloterminal), la constante de unión KD contra PD-1 humana medida por Octet, y la Tm del scFv.

La figura 24A a G muestra los resultados de algunos cribados de Fab anti-CTLA-4. Esto representa el código XENP para los ejemplos de Fab y scFv, la designación de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD contra CTLA-4 humano y cyno medida por Octet, y la Tm del scFv y Fab. Además, el número de secuencias de 9 unidades monoméricas que coincidían exactamente con al menos una línea germinal de VH o VL humana se representa como una medida de humanidad para las regiones variables tanto de los Fab como de los scFv.

Las figuras 25A y B muestran una reacción linfocitaria mixta en la que se observa un aumento de la liberación de IL-2 por nivolumab (anticuerpo monoclonal anti-PD-1, comercializado como Opdivo®) solo, ipilimumab solo (anticuerpo monoclonal antiCTLA-4, comercializado como Yervoy®), un prototipo biespecífico antiCTLA-4 x anti-PD-1 basado en los brazos de nivolumab e ipilimumab, y un control combinado de “un brazo”.

- La figura 26 muestra la reacción de linfocitos mixtos observando el aumento de la liberación de IL-2 por anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 con brazos Fab anti-CTLA-4 variantes y brazos scFv anti-PD-1 variantes, así como nivolumab solo, ipilimumab solo y un prototipo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 basado en los brazos nivolumab e ipilimumab como controles.
- La figura 27 muestra que los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 mejoran el injerto (medido por recuentos de CD45 humanos) en ratones NSG injertados con PBMC humanas. La mejora es mayor que la observada con nivolumab (XENP16432) solo (línea discontinua).
- La figura 28 muestra la correlación entre el peso corporal y el recuento de células CD45 en la enfermedad de injerto contra hospedador, lo que demuestra que los niveles de células CD45 son predictivos de la enfermedad.
- La figura 29 muestra la correlación entre el recuento de células CD45 y la liberación de IFNy en el estudio descrito en la figura 27.
- La figura 30 muestra que los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 mejoran el injerto (medido por recuentos de CD45 humanos) en ratones NSG injertados con PBMC humanas. La mejora es mayor que la observada con nivolumab (XENP16432) solo (línea discontinua).
- La figura 31 muestra la correlación entre el recuento de células CD45 y la liberación de IFNy en el estudio descrito en la figura 30.
- La figura 32 muestra la comparación de los efectos del artículo de ensayo entre los estudios representados en las figuras 27 y 30, demostrando la superioridad consistente de los anticuerpos biespecíficos de punto de control anti-PD-1 x anti-CTLA-4 sobre nivolumab solo.
- Las figuras 33A y B muestran los resultados de reacciones de linfocitos mixtos para evaluar los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1, anti-LAG-3 x anti-PD-1 y anti-LAG-3 x anti-CTLA-4. Los niveles de analitos se normalizaron con respecto a los inducidos por nivolumab solo (los valores superiores a uno representan una mejora con respecto a nivolumab).
- La figura 34 muestra reacciones SEB para evaluar biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4. El propio biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 mejora la respuesta a IL-2 en relación con el control, aunque es inferior a nivolumab solo. Sin embargo, el biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 combinado con nivolumab conduce a una respuesta a IL-2 significativamente mayor que cualquiera de los dos por separado.
- La figura 35 muestra que los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1, anti-LAG-3 x anti-PD-1, anti-BTLA x anti-PD-1 y anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 mejoran el injerto (medido por recuentos de CD45 humano) en ratones NSG injertados con PBMC humanas. La mejora es mayor que la observada con nivolumab (XENP 16432) solo. Además, el biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 se combina con nivolumab para obtener los mayores niveles de injerto.
- Las figuras 36A y B muestran que los biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 requieren la interrupción de la interacción HVEM/BTLA para poseer una actividad desrepresora equivalente a la del nivolumab.
- La figura 37A-E muestra las secuencias de varios armazones útiles en formato abrebotellas basados en IgG1 humana, sin las secuencias de Fv (p. ej. el scFv y el vh y vh para el lado Fab). El armazón 1 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 2 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las diferentes variantes de desviación, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 3 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las diferentes variantes de desviación, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 4 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las diferentes variantes de desviación, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 5 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356D/358L), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 6 del abrebotellas se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas, así como una variante N297A en ambas cadenas. El armazón 7 es idéntico al 6, salvo que la mutación es N297S. Los formatos alternativos para los armazones 6 y 7

5 pueden excluir las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 8 se basa en la IgG4 humana, e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas, así como una variante S228P (numeración de EU, esto es S241P en Kabat) en ambas cadenas que anula el intercambio del brazo Fab como es conocido en la técnica. Los formatos alternativos para el armazón 8 del abrebotellas pueden excluir las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 9 está basado en la IgG2, e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q : L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab. El armazón 10 se basa en la IgG2 humana, e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q : L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab, así como una variante S267K en ambas cadenas.

10 15 Como apreciarán los expertos en la materia y se describe a continuación, estas secuencias pueden utilizarse con cualquier par vh y vl descrito en la presente memoria, con un monómero que incluya un scFv (opcionalmente incluyendo un enlazador scFv cargado) y el otro monómero que incluya las secuencias Fab (p. ej. un vh unido a la “cadena pesada lateral Fab” y un vl unido a la “cadena ligera constante”). Es decir, cualquiera de las secuencias de Fv descritas en la presente memoria para anti-CTLA-4, anti-PD-1, anti-LAG-3, anti-TIM-3, anti-TIGIT y anti-BTLA, ya sea como scFv (de nuevo, opcionalmente con enlazadores scFv cargados) o como Fab, puede incorporarse a estas estructuras de la figura 37 en cualquier combinación. La cadena ligera constante representada en la figura 37A puede utilizarse para todas las construcciones de la figura, aunque también puede sustituirse por la cadena ligera constante kappa.

20 25 Cabe señalar que estos armazones abrebotellas encuentran uso en el formato Central-scFv de la figura 1F, donde un segundo Fab adicional (vh-CH1 y vl-ligera constante) con la misma unión a antígeno que el primer Fab se añade al aminoterinal del scFv en el “lado de abrebotellas”.

30 35 Dentro de cada uno de estos armazones se incluyen secuencias que son idénticas en un 90, 95, 98 y 99 % (según se define en la presente memoria) a las secuencias mencionadas, y/o contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones de aminoácidos adicionales (en comparación con el “original” de la figura, que, como apreciarán los expertos en la materia, ya contiene una serie de modificaciones de aminoácidos en comparación con la IgG1 humana original (o IgG2 o IgG4, dependiendo del armazón). Es decir, los armazones citados pueden contener modificaciones adicionales de aminoácidos (generalmente sustituciones de aminoácidos) además de las variantes de sesgo, pl y supresión contenidas en los armazones de esta figura.

40 45 La figura 38A a D muestra las secuencias de un armazón mAb-scFv de uso en la descripción, al que se añaden las secuencias de Fv descritas. El armazón 1 del mAb-scFv se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 2 se basa en la IgG1 humana (alotipo 356D/358L), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 3 se basa en la IgG1 humana (alotipo 356E/358M), e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas, así como una variante N297A en ambas cadenas. El armazón 4 es idéntico al 3, salvo que la mutación es N297S. Los formatos alternativos para los armazones de mAb-scFv 3 y 4 pueden excluir las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas. El armazón 5 se basa en la IgG4 humana, e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q:L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab y las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K en ambas cadenas, así como una variante S228P (numeración de EU, esto es S241P en Kabat) en ambas cadenas que anula el intercambio del brazo Fab como es conocido en la técnica. El armazón 6 está basado en la IgG2 humana e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q: L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab. El armazón 7 se basa en la IgG2 humana, e incluye las variantes de desviación S364K/E357Q: L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en el lado Fab, así como una variante S267K en ambas cadenas.

50 55 60 65 Como apreciarán los expertos en la materia y se describe a continuación, estas secuencias pueden utilizarse con cualquier par vh y vl descrito en la presente memoria, con un monómero que incluya tanto un Fab como un scFv (opcionalmente incluyendo un enlazador scFv cargado) y el otro monómero que incluya la secuencia Fab (p. ej. un vh unido a la “cadena pesada lateral Fab” y un vl unido a la “cadena ligera constante”). Es decir, cualquier secuencia Fv descrita en la presente memoria para anti-CTLA-4, anti-PD-1, anti-LAG-3, anti-TIM-3, anti-TIGIT y anti-BTLA, ya sea como scFv (de nuevo, opcionalmente con enlazadores scFv cargados) o como Fab, puede incorporarse a este armazón de la figura 38 en cualquier combinación. El lado de monómero 1 es el lado de Fab-scFv pl negativo, e incluye las variantes de heterodimerización L368D/K370S, las variantes de pl isostéricas N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/ G236del/S267K, (todas relativas a IgG1). El lado del monómero 2 es el lado scFv pl positivo, e incluye las variantes de heterodimerización S364K/E357Q. Sin embargo, se pueden sustituir por otros pares de variantes de sesgo, en particular [S364K/E357Q : L368D/K370S]; [L368D/K370S : S364K]; [L368E/K370S : S364K]; [T411T/E360E/Q362E : D401K]; [L368D/K370S :

S364K/E357L], [K370S : S364K/E357Q], [T366S/L368A/Y407V : T366W] y [T366S/L368A/Y407V/Y394C : T366W/S354C].

5 La cadena ligera constante representada en la figura 38A puede utilizarse para todas las construcciones de la figura, aunque también puede sustituirse por la cadena ligera constante kappa.

Cabe señalar que estos armazones mAb-scFv se utilizan tanto en el formato mAb-Fv de la figura 1H (donde un monómero comprende un vh en el carboxiloterminal y el otro un vh en el carboxiloterminal) como en el formato scFv-mAb de la figura 1E (con un dominio scFv añadido al carboxiloterminal de uno de los monómeros).

10 Dentro de cada uno de estos armazones se incluyen secuencias que son idénticas en un 90, 95, 98 y 99 % (según se define en la presente memoria) a las secuencias mencionadas, y/o contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones de aminoácidos adicionales (en comparación con el “original” de la figura, que, como apreciarán los expertos en la materia, ya contiene una serie de modificaciones de aminoácidos en comparación con la IgG1 humana original (o IgG2 o IgG4, dependiendo del armazón). Es decir, los armazones citados pueden contener modificaciones adicionales de aminoácidos (generalmente sustituciones de aminoácidos) además de las variantes de sesgo, pl y supresión contenidas en los armazones de esta figura.

20 Las figuras 39A y B muestran una matriz de combinaciones posibles para los anticuerpos biespecíficos contra puntos de control. En la figura 39A, las combinaciones no están limitadas por el formato, y se puede utilizar cualquier formato de la figura 1. Una “A” en una casilla significa que las CDR del primer ABD (enumeradas en el eje X) pueden combinarse con las CDR del segundo ABD (enumeradas en el eje Y). Una “B” en la casilla significa que las cadenas vh y vl del primer ABD pueden combinarse con las cadenas vh y vl del segundo ABD. Una “C” en la casilla significa que las CDR del primer ABD pueden combinarse con las cadenas vh y vl del segundo ABD. Una “D” en la casilla significa que las cadenas vh y vl del primer ABD pueden combinarse con las CDR del segundo ABD. Una “E” en la casilla significa que el ABD contra PD-1 se selecciona del grupo de 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1. Una “F” en la casilla significa que el ABD contra CTLA-4 se selecciona del grupo de [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; 0[CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67; y [CTLA-4]_H3_L0.74. Una “G” en la casilla significa que el TIM-3 ABD se selecciona del grupo de 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0; y 7C2_H0L0. Una “H” en la casilla significa que el LAG-3 ABD se selecciona del grupo de identificadores 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1. Una “I” en la casilla significa que Una “J” en la casilla significa que el BTLA ABD se selecciona del grupo 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1. La figura 39B es idéntica a la figura 39A, salvo que la figura 39B es específica del formato abrebotellas. En B, cuando el primer ABD se une a PD-1, el primer ABD es el monómero scFv, y los otros ABD (CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM-3 y BTLA) están en el monómero Fab. En B, cuando el primer ABD se une a CTLA-4, está en el monómero scFv (excepto cuando se combina con PD-1, cuando está en el lado Fab), con los otros ABD (CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM-3 y BTLA) están en el monómero Fab.

50 La figura 40 muestra una matriz de posibles combinaciones de formatos de abrebotellas. Una “Q” en la casilla significa que el primer dominio ABD (de nuevo, listado en el eje X) es el scFv y el segundo ABD (de nuevo, listado en el eje Y) es el lado Fab. Una “R” en el recuadro significa que el primer ABD es el lado Fab y el segundo ABD es el scFv. Una “S” en el recuadro significa que el primer ABD es anti-PD-1 y es el lado scFv. Una “T” en el recuadro significa que el primer ABD es anti-CTLA-4 y es el lado scFv. Una “U” en la casilla significa que el primer ABD es anti-TIM-3 y es el lado scFv. Una “V” en el recuadro significa que el primer ABD es anti-LAG-3 y es el lado scFv. Una “W” en la casilla significa que el primer ABD es anti-TIGIT y es el lado scFv. Una “X” en la casilla significa que el primer ABD es anti-BTLA y es el lado scFv. Además, cada combinación esbozada en la figura 39 puede utilizar las CDR, los scFv y las combinaciones de vh y vl de la figura 38. Además, algunos ejemplos particulares de los armazones abrebotellas de la figura 39 son las secuencias de la figura 36.

Las figuras 41A y B muestran un esquema asociado al beneficio que un anticuerpo biespecífico de punto de control puede aportar frente a las terapias combinadas que utilizan dos anticuerpos o fármacos diferentes.

En la figura 42 se representa un esquema similar, que muestra que, dado que los TIL tumorales coexpresan múltiples puntos de control, una unión bivalente aumenta la avidez, potenciando la actividad antitumoral y evitando la toxicidad periférica.

- 5 La figura 43 muestra que los anticuerpos de punto de control biespecíficos descritos en la presente memoria (por ejemplo, anti-LAG-3 x anti-CTLA-4) pueden combinarse con otros anticuerpos de punto de control monoespecíficos (por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab).
- 10 La figura 44 muestra que PD-1 y CTLA-4 se coexpresan en diversos tipos de tumores, como los de vejiga, mama, colon, próstata, pulmón, melanoma y ovario.
- 15 La figura 45A-C muestra una comparación de la potenciación de IL-2 B) por anti-PD-1 bivalente y anti-CTLA-4 x anti-PD-1 y C) y anti-PD-1 de un brazo + anti-CTLA-4 de un brazo y anti-CTLA-4 x anti-PD-1 en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB, así como C) un experimento de control sin estimulación con SEB.
- 20 Las figuras 46A y B muestran el bloqueo de PD-1 a los ligandos PD-L1 y PD-L2 por un anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 ilustrativo en comparación con anticuerpos anti-PD-1 de un brazo y anticuerpos anti-CTLA-4 de un brazo.
- 25 La figura 47 muestra la unión de células T en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB mediante un anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 ilustrativo.
- 30 La figura 48 muestra que los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 mejoran el injerto (medido por recuentos de CD45 humanos) en ratones NSG injertados con PBMC humanas. La mejora es mayor que la observada con nivolumab (XENP16432) solo.
- 35 La figura 49 muestra que los candidatos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 se unen más ávidamente a las células T en comparación con los controles de “un solo brazo” en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB.
- 40 Las figuras 50A y B muestran que el biespecífico químérico anti-BTLA x anti-PD-1 promueve la secreción de IL-2 a partir de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC se estimularon con 10 ng/ml de SEB durante 3 días con los artículos de prueba indicados. Se recogieron los sobrenadantes celulares y se analizaron con MSD para el analito indicado. A: 20 µg/ml de artículo de prueba; B 5 µg/ml de artículo de prueba.
- 45 Las figuras 51A y B muestran que el biespecífico químérico anti-BTLA x anti-PD-1 promueve la secreción de IFNy a partir de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC se estimularon con 10 ng/ml de SEB durante 3 días con los artículos de prueba indicados. Se recogieron los sobrenadantes celulares y se analizaron con MSD para el analito indicado. A: 20 µg/ml de artículo de prueba; B 5 µg/ml de artículo de prueba.
- 50 Las figuras 52A y B muestran que los anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 (químéricos y con brazos Fab anti-BTLA humanizados/optimizados) promueven la secreción de IL-2 e IFN-γ a partir de PBMC estimuladas con SEB. Ambos paneles eran PBMC estimuladas con 10 ng/ml de SEB durante 3 días con 20 µg/ml de los artículos de prueba indicados. Los sobrenadantes celulares se recogieron 72 horas después y se analizaron para el analito indicado.
- 55 La figura 53A-F muestra el curso temporal (días 10, 14 y 22) de la mejora en los recuentos de células CD45 y la secreción de IFNy por un anticuerpo biespecífico anti-BTLA x anti-PD-1 ilustrativo en un estudio de EICH.
- 60 La figura 54 muestra algunos datos de ingeniería del dominio de unión a antígeno anti-BTLA 9C6. Esto representa el código XENP para ejemplos bivalentes, las designaciones de los dominios de ingeniería vh y vl, y la constante de unión KD contra BTLA humana medida por Octet.
- 65 La figura 55A-E muestra algunos datos de ingeniería del dominio de unión a antígeno 2A11 anti-LAG-3. Esto representa el código XENP para ejemplos de Fab, las designaciones de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD contra LAG-3 humano medida por Octet y la Tm del Fab.
- 70 La figura 56A-K muestra algunos datos de ingeniería del dominio de unión a antígeno 7G8 anti-LAG-3. Esto representa el código XENP para ejemplos de Fab, las designaciones de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD contra LAG-3 humano medida por Octet y la Tm del Fab.
- 75 La figura 57A y B muestra las Kd para los formatos abreboteñas heterodiméricos biespecíficos anti-LAG-3 X anti-CTLA-4 basados en brazos Fab anti-LAG-3 optimizados 2A11 o 7G8 medidos por Octet.
- 80 La figura 58 muestra que los biespecíficos anti-LAG-3 (7G8) x anti-CTLA-4 y anti-LAG-3 (2A11) x anti-CTLA-4 se unen más ávidamente que los controles anti-LAG-3 de un solo brazo. Las PBMC se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 3 días. A continuación, las células se trataron con los artículos de ensayo indicados durante 30 min a 4°C

grados y se lavaron dos veces. A continuación, las células se trataron con un anticuerpo anti-CD3-FITC y anti-Fc-APC humano. A continuación, las células se lavaron dos veces y se analizaron mediante citometría de flujo.

- 5 Las figuras 59A y B muestran que los biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 basados en 7G8 presentan una función más selectiva en las PBMC que los biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 basados en 2A11, como indica el aumento de la liberación de IL-2 e IFN γ . Las PBMC se estimularon con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, las células se lavaron dos veces en medio de cultivo y se estimularon con 500 ng/ml de SEB en combinación con las cantidades indicadas de artículos de ensayo. Las células se analizaron para el analito indicado (IL-2 o IFN- γ) 24 horas después del tratamiento. Cada punto representa un único donante probado en singlete técnico.
- 10 10 Las figuras 60A y B muestran reacciones linfocitarias mixtas (MLR) con anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 X anti-CTLA-4. Se realizaron 40 reacciones únicas de MLR en presencia de 20 μ g/ml de los artículos de prueba indicados. Los sobrenadantes celulares se analizaron mediante MSD 6 días después del tratamiento para determinar la presencia de A: IL-2 y B: IFN γ .
- 15 15 La figura 61A y B muestra la potenciación de la liberación de IL-2 e IFN γ por candidatos adicionales anti-LAG-3 X anti-CTLA-4 en los ensayos de SEB. Las PBMC se estimularon con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, las células se lavaron dos veces en medio de cultivo y se estimularon con 500 ng/ml de SEB en combinación con las cantidades indicadas de artículos de ensayo. Se analizaron las células para determinar el analito indicado (IL-2 o IFN- γ) 24 horas después del tratamiento. Cada punto representa un único donante probado en singlete técnico.
- 20 20 La figura 62A y B muestra las Kd para los formatos abrebotellas heterodiméricos biespecíficos anti-LAG-3 X anti-PD-1 basados en brazos Fab anti-LAG-3 optimizados 2A11 o 7G8 medidos por Octet.
- 25 25 Las figuras 63A y 63B muestran la capacidad de los clones humanizados/optimizados 7G8 y 2A11 anti-LAG-3 para bloquear la unión de LAG-3 a células Daudi que expresan MHC-II de forma endógena.
- 30 30 La figura 64A y B muestra la función candidata anti-LAG-3 x anti-PD-1 en células T estimuladas con SEB. Las PBMC se estimularon con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, las células se lavaron dos veces en medio de cultivo y se estimularon con 500 ng/ml de SEB en combinación con las cantidades indicadas de artículos de ensayo. Las células se analizaron para el analito indicado 24 h después del tratamiento. Cada punto representa un único donante probado en singlete técnico.
- 35 35 La figura 65 son gráficos que muestran que los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) coexpresan múltiples receptores de puntos de control en varios tumores. En particular, los gráficos muestran que varios tumores coexpresan PD-1 y CTLA-4, PD-1 y BTLA, PD-1 y LAG-3; y LAG-3 y CTLA-4. Los resultados mostrados se basan en datos generados por la red TCGA Research: <http://cancergenome.nih.gov/>
- 40 40 La figura 66 muestra que los anticuerpos biespecíficos del sujeto proporcionados en la presente memoria se dirigen selectivamente a células T positivas para punto de control dual. Los anticuerpos biespecíficos PD-1 x LAG-3 se utilizan para mostrar la ocupación de los receptores PD-1 y LAG-3 en células T CD3+ estimulados con enterotoxina estafilocócica B (SEB) en comparación con un control negativo.
- 45 45 La figura 67A-F son gráficos que muestran que los dominios de anticuerpos componentes de los presentes anticuerpos proporcionados en la presente memoria son capaces de bloquear las interacciones receptor/ligando de punto de control. En particular, un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo 1G6 scFv anti-PD-1 es capaz de bloquear las interacciones PD-1/PD-L1 y PD-1/PD-L2; un brazo 7G8 anti-LAG-3 es capaz de bloquear la interacción LAG-3/MHC II; un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo Fab anti-PD-1 ilustrativo es capaz de bloquear las interacciones CTLA-4/CD80 y CTLA-4/CD86; y un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo Fab 9C6 anti-BTLA es capaz de bloquear la interacción BTLA/HVEM.
- 50 50 La figura 68 compara la potenciación de la liberación de IL-2 por un anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 ilustrativo y nivolumab.
- 55 55 La figura 69 compara el aumento de la liberación de IL-2 mediante un anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 ilustrativo, el mismo anticuerpo biespecífico en combinación con nivolumab y nivolumab solo.
- 60 60 La figura 70 compara la potenciación de la liberación de IL-2 por un anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-PD-1 ilustrativo y nivolumab.
- 65 65 La figura 71 compara la potenciación de la liberación de IL-2 por un anticuerpo biespecífico anti-BTLA x anti-PD-1 ilustrativo y nivolumab.
- 65 En la figura 72 se compara la mejora de la EICH (indicada por el recuento de células CD45) mediante un anticuerpo biespecífico anti-PD-1 x anti-CTLA-4 ilustrativo, nivolumab solo y nivolumab en combinación con ipilimumab.

En la figura 73 se compara la mejora de la EICH (indicada por el recuento de células CD45) mediante un anticuerpo biespecífico anti-BTLA x anti-PD-1 ilustrativo y nivolumab.

5 En la figura 74 se compara la mejora de la EICH (indicada por el recuento de células CD45) mediante un anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 ilustrativo, el mismo anticuerpo biespecífico en combinación con nivolumab y nivolumab solo.

10 La figura 75 compara la mejora de la EICH (indicada por el recuento de células CD45) mediante un anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-PD-1 ilustrativo y nivolumab.

15 10 En las figuras 76A-D se muestran dos estudios que demuestran que los anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 pueden promover la eficacia antitumoral *in vivo* mediada por células T. Las células cancerosas KG1a-luc se injertaron en ratones. Veintiún días después, las huPMC se injertaron en los mismos ratones y se sometieron a tratamientos semanales con anticuerpos (anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1; anticuerpos bivalentes anti-PD-1; o anticuerpo bivalente anti-PD-1 + anticuerpo bivalente anti-CTLA-4). Se realizó un estudio por la imagen de células cancerosas IVIS en ratones para evaluar el tamaño del tumor, determinado por el cambio en el flujo tumoral.

III. Descripción detallada de la invención

20 20 Se hace referencia al listado de secuencias adjunto como sigue: las secuencias anti-PD-1 adecuadas para su uso como ABD incluyen las Id. de sec. n.º: 6209-11464 (secuencias scFv de PD-1, aunque las secuencias de Fv en ellas contenidas pueden formatearse como Fab), las Id. de sec. n.º: 11465-17134 (secuencias PD-1 Fab, aunque las secuencias de Fv en ellas contenidas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 33003-33072 (secuencias Fab de PD-1 adicionales, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 33073-35394 (secuencias scFv de PD-1 adicionales, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como Fab) y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 (construcciones bivalentes de PD-1, que pueden formatearse como scFv o Fab). Las secuencias anti-CTLA-4 adecuadas para su uso como ABD incluyen las Id. de sec. n.º: 21-2918 (secuencias scFv de CTLA-4, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como Fab), las Id. de sec. n.º: 2919-6208 (secuencias Fab de CTLA-4, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 36739-36818 (secuencias Fab de CTLA-4 adicionales, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv) y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 (construcciones de CTLA-4 de un brazo, que pueden formatearse como Fab o scFv). Entre las secuencias anti-LAG-3 adecuadas para su uso como ABD se incluyen las Id. de sec. n.º: 17135-20764 (Fab de LAG-3, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 36819-36962 (Fab de LAG-3 adicionales aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 35417-35606 (Fab de LAG-3 adicionales aunque sus secuencias de Fv pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 25194-32793 (Fab de LAG-3 adicionales aunque sus secuencias de Fv pueden formatearse como scFv) y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 (construcciones LAG-3 de un brazo que pueden formatearse como Fab o scFv). Entre las secuencias anti-TIM-3 adecuadas para su uso como ABD se incluyen las Id. de sec. n.º: 20765-20884 (Fab de TIM-3, aunque las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv), las Id. de sec. n.º: 37587-37698 (Fab de TIM-3 adicionales, las secuencias de Fv de las mismas pueden formatearse como scFv) y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (construcciones TIM-3 bivalentes que pueden formatearse como Fab o scFv). Las secuencias anti-BTLA adecuadas para su uso como ABD incluyen las Id. de sec. n.º: 20885-21503 (Fab de BTLA aunque las secuencias de Fv de los mismos pueden formatearse como scFv) y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 (Fab de BTLA adicionales aunque las secuencias de Fv de los mismos pueden formatearse como scFv). Las secuencias anti-TIGIT adecuadas para su uso como ABD incluyen las Id. de sec. n.º: 21504-21523 (TIGIT Fab aunque las secuencias de Fv en ellos pueden ser formateadas como scFv) y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 (TIGIT Fab adicionales aunque las secuencias de Fv en ellos pueden formatearse como scFv).

50 50 Los anticuerpos biespecíficos de la descripción incluyen las construcciones LAG3 X CTLA4 de las Id. de sec. n.º: 35607-35866 y las Id. de sec. n.º: 21524-22620. Las construcciones PD-1 X CTLA4 incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 36167-36346 y las Id. de sec. n.º: 23316-23735. Las construcciones PD-1 X TIM3 incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 25174-25193. Las construcciones PD-1 X LAG3 incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 35867-36126 y las Id. de sec. n.º: 23736-25133. Las construcciones PD-1 X TIGIT incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 25134-25173. Las construcciones PD-1 X BTLA incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 22724-23315 y las Id. de sec. n.º: 36147-36166. Las construcciones CTLA4 X BTLA incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º: 22624-22723. Por último, los nombres de XENP23552, XENP22841, XENP22842, XENP22843, XENP22844, XENP22845, XENP22846, XENP22847, XENP22848, XENP22849, XENP22850, XENP22851, XENP22852, XENP22858, XENP22854, XENP22855 deberían haber incluido la anotación “M428L/N434S” en el título, que se omitió por error.

B. Visión general

65 65 Los anticuerpos terapéuticos dirigidos contra los inhibidores de los puntos de control inmunitarios, como PD-1, están resultando muy prometedores en circunstancias limitadas en la clínica para el tratamiento del cáncer. El cáncer puede considerarse como una incapacidad del paciente para reconocer y eliminar las células cancerosas. En muchos casos,

estas células transformadas (por ejemplo, cancerosas) contrarrestan la inmunovigilancia. Existen mecanismos de control naturales que limitan la activación de las células T en el organismo para evitar una actividad desenfrenada de estas células, que pueden aprovechar las células cancerosas para eludir o suprimir la respuesta inmunitaria. El objetivo de la inmunoterapia es restaurar la capacidad de las células efectoras inmunitarias, especialmente las células T, para reconocer y eliminar el cáncer. El campo de la inmunooncología, a veces denominada "inmunoterapia", está evolucionando rápidamente, con varias aprobaciones recientes de anticuerpos inhibidores del punto de control de células T, como Yervoy, Keytruda y Opdivo. Estos anticuerpos suelen denominarse "inhibidores de los puntos de control" porque bloquean los reguladores normalmente negativos de la inmunidad de las células T. Por lo general, se entiende que pueden utilizarse diversas señales inmunomoduladoras, tanto coestimuladoras como coinhibidoras, para orquestar una respuesta inmunitaria óptima específica de antígeno.

Por lo general, estos anticuerpos monoclonales se unen a proteínas inhibidoras del punto de control, como CTLA-4 y PD-1, que en circunstancias normales impiden o suprimen la activación de las células T citotóxicas (CTL). Inhibiendo la proteína del punto de control, por ejemplo mediante el uso de anticuerpos que se unen a estas proteínas, se puede conseguir una mayor respuesta de las células T contra los tumores. Es decir, estas proteínas de control del cáncer suprimen la respuesta inmunitaria; cuando se bloquean las proteínas, por ejemplo utilizando anticuerpos contra la proteína del punto de control, se activa el sistema inmunitario, lo que conduce a la estimulación inmunitaria, dando lugar al tratamiento de afecciones como el cáncer y las enfermedades infecciosas.

Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, los estudios han demostrado que los TIL suelen expresar múltiples receptores de puntos de control; esto puede sugerir que el bloqueo único de los puntos de control podría ser insuficiente para promover una respuesta completa de las células T. Además, es probable que los TIL que expresan múltiples puntos de control sean de hecho los más reactivos al tumor, lo que sugiere que las terapias que atacan a más de un antígeno de punto de control podrían ser muy útiles.

Por consiguiente, la presente descripción proporciona anticuerpos biespecíficos de punto de control, que se unen a células que expresan los dos antígenos y métodos de activación de células T y/o células NK para tratar enfermedades como el cáncer y las enfermedades infecciosas, y otras afecciones en las que el aumento de la actividad inmunitaria da lugar a un tratamiento.

Por lo tanto, la descripción se refiere, en algunos casos, a resolver el problema de la toxicidad y el gasto de administrar múltiples anticuerpos proporcionando anticuerpos biespecíficos que se unen a dos moléculas inhibidoras de puntos de control diferentes en una sola célula y que ventajosamente requieren la administración de una sola sustancia terapéutica.

Los anticuerpos biespecíficos, que pueden unirse simultáneamente a dos dianas diferentes, ofrecen la posibilidad de mejorar la selectividad de las células TIL frente a las células T periféricas, al tiempo que reducen el coste del tratamiento. La interacción bivalente de un anticuerpo con dos dianas en una superficie celular debería, en algunos casos, conducir a una mayor avidez de unión en relación con una interacción monovalente con una diana a la vez. Por ello, los anticuerpos bivalentes normales tienden a tener una gran avidez por su diana en la superficie celular. Con los anticuerpos biespecíficos, existe la posibilidad de crear una mayor selectividad para las células que expresan simultáneamente dos dianas diferentes, utilizando la mayor avidez que ofrece la unión simultánea a ambas dianas.

Por consiguiente, la presente descripción se refiere a construcciones novedosas para proporcionar anticuerpos heterodiméricos que permiten la unión a más de un antígeno o ligando de punto de control, p. ej. para permitir la unión biespecífica. Por lo tanto, por ejemplo, se espera que un anticuerpo biespecífico anti-PD1 x anti-CTLA4 (PD1 x CTLA4) sea más selectivo para las células TIL doblemente positivas PD1+CTLA4+ frente a las células T positivas solo para PD1 o solo para CTLA4. Por lo tanto, se espera que el bloqueo selectivo de las células TIL doblemente positivas frente a las células T unipositivas mejore el índice terapéutico del bloqueo combinado de los puntos de control. Lo mismo ocurre con las demás combinaciones posibles que se describen en la presente memoria. Por consiguiente, los anticuerpos biespecíficos adecuados de la invención se unen a PD-1 y CTLA-4, PD-1 y TIM-3, PD-1 y LAG-3, PD-1 y TIGIT, PD-1 y BTLA, CTLA-4 y TIM-3, CTLA-4 y LAG-3, CTLA-4 y TIGIT, CTLA-4 y BTLA, TIM-3 y LAG-3, TIM-3 y TIGIT, TIM-3 y BTLA, LAG-3 y TIGIT, LAG-3 y BTLA y TIGIT y BTLA. Obsérvese que generalmente estos anticuerpos biespecíficos se denominan "anti-PD-1 X anti-CTLA-4", o de forma simplista o por facilidad (y por tanto indistintamente) como "PD-1 X CTLA-4", etc. para cada par.

Los anticuerpos de punto de control biespecíficos heterodiméricos de la invención son útiles para tratar una variedad de tipos de cánceres. Como apreciarán los expertos en la materia, a diferencia de los anticuerpos monoclonales tradicionales que se unen a抗ígenos tumorales, o de las clases más recientes de anticuerpos biespecíficos que se unen, por ejemplo, a CD3 y a抗ígenos tumorales (como los descritos en el documento US-2016-0355608 A1, por ejemplo), los anticuerpos de punto de control se utilizan para aumentar la respuesta inmunitaria, pero en general su acción no es específica del tumor. Es decir, los anticuerpos de punto de control biespecíficos de la invención inhiben la supresión del sistema inmunitario, lo que generalmente conduce a la activación de las células T, que a su vez conduce a una mayor respuesta inmunitaria frente a las células cancerosas y, por tanto, al tratamiento. Por tanto, cabe esperar que estos anticuerpos resulten útiles para el tratamiento de una amplia variedad de tipos de tumores. Por

ejemplo, la FDA aprobó recientemente Keytruda®, un anticuerpo monoespecífico anti-PD-1 en función de una característica genética, en lugar de un tipo de tumor.

Como se expone más adelante, existen diversas formas de medir la activación de las células T. Los efectos funcionales de los anticuerpos biespecíficos contra los puntos de control en las células NK y T pueden evaluarse *in vitro* (y en algunos casos *in vivo*, como se describe con más detalle a continuación) midiendo los cambios en los siguientes parámetros: proliferación, liberación de citocinas y marcadores de la superficie celular. En el caso de las células NK, el aumento de la proliferación celular, la citotoxicidad (capacidad de eliminar células diana medida por el aumento de la expresión de CD107a, granzima y perforina, o midiendo directamente la eliminación de células diana), la producción de citocinas (por ejemplo, IFN-γ y TNF) y la expresión de receptores de superficie celular (por ejemplo, CD25) es indicativo de modulación inmunitaria, por ejemplo, una mayor eliminación de células cancerosas. En el caso de las células T, el aumento de la proliferación, el aumento de la expresión de marcadores de activación de la superficie celular (p. ej. CD25, CD69, CD137 y PD1), la citotoxicidad (capacidad de destruir células diana) y la producción de citocinas (p. ej. IL-2, IL-4, IL-6, IFN-γ, TNF-α, IL-10, IL-17A) son indicativos de modulación inmunitaria, por ejemplo, una mayor destrucción de células cancerosas. Por consiguiente, la evaluación del tratamiento puede realizarse mediante ensayos que evalúen uno o más de los siguientes aspectos: (i) aumentos en la respuesta inmunitaria, (ii) aumentos en la activación de células T $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$, (iii) aumentos en la actividad de células T citotóxicas, (iv) aumentos en la actividad de células NK y/o NKT, (v) alivio de la supresión de células T $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$, (vi) aumentos en la secreción de citocinas proinflamatorias, (vii) aumentos en la secreción de IL-2; (viii) aumento de la producción de interferón-γ, (ix) aumento de la respuesta Th1, (x) disminución de la respuesta Th2, (xi) disminución del número de células y/o de la actividad de al menos una de las células y células T reguladoras (xii) aumento de los infiltrados inmunitarios tumorales.

En la presente memoria se describe el uso de anticuerpos biespecíficos contra puntos de control para realizar uno o más de los siguientes procedimientos en un sujeto que lo necesite: (a) aumento de las citocinas proinflamatorias; (b) aumento de la proliferación, expansión o infiltración tumoral de las células T; (c) aumento de la producción de interferón-γ, TNF-α y otras citocinas por parte de las células T; (d) aumento de la secreción de IL-2; (e) estímulo de las respuestas de anticuerpos; (f) inhibición del crecimiento de las células cancerosas; (g) promoción de la inmunidad antigenica específica de las células T; (h) promoción de la activación de células T CD4+ y/o CD8+; (i) alivio de la supresión de células T; (j) promoción de la actividad de las células NK; (k) promoción de la apoptosis o la lisis de las células cancerosas; y/o (l) efecto citotóxico o citostático sobre las células cancerosas.

En la presente memoria se describen anticuerpos heterodiméricos biespecíficos contra puntos de control. Las construcciones de anticuerpos heterodiméricos se basan en la naturaleza de autoensamblaje de los dos dominios Fc de las cadenas pesadas de los anticuerpos, por ejemplo, dos “monómeros” que se ensamblan en un “dímero”. Los anticuerpos heterodiméricos se preparan por alteración de la secuencia de aminoácidos de cada monómero, como se analiza más completamente a continuación. Por tanto, la presente descripción se refiere en general a la creación de anticuerpos heterodiméricos, que pueden coenlazar抗ígenos de punto de control de varias maneras, basándose en variantes de aminoácidos en las regiones constantes que son diferentes en cada cadena para promover la formación heterodimérica y/o permitir la facilidad de purificación de los heterodímeros sobre los homodímeros.

Por tanto, la presente descripción proporciona anticuerpos biespecíficos contra puntos de control. Un problema actual en las tecnologías de anticuerpos es el deseo de obtener anticuerpos “biespecíficos” que se unan a dos (o más)抗ígenos diferentes simultáneamente, permitiendo en general acercar los diferentes抗ígenos y dando lugar a nuevas funcionalidades y nuevas terapias. En general, estos anticuerpos se fabrican incluyendo genes para cada cadena pesada y ligera en las células hospedadoras (en general, en la presente invención, genes para dos monómeros de cadena pesada y una cadena ligera, como se describe en la presente memoria). Esto generalmente da como resultado la formación del heterodímero deseado (AB), así como los dos homodímeros (AA y BB). Sin embargo, un obstáculo principal en la formación de anticuerpos biespecíficos es la dificultad de purificar los anticuerpos heterodiméricos aparte de los anticuerpos homodiméricos y/o sesgar la formación del heterodímero sobre la formación de los homodímeros.

Para resolver este problema, existen varios mecanismos que pueden utilizarse para generar los heterodímeros de la presente invención. Además, como apreciarán los expertos en la técnica, estos mecanismos pueden combinarse para asegurar una alta heterodimerización. Por tanto, las variantes de aminoácidos que conducen a la producción de anticuerpos heterodiméricos se denominan “variantes de heterodimerización”. Como se analiza a continuación, las variantes de heterodimerización pueden incluir variantes estéricas (por ejemplo, las variantes de “botones y ojales” o “de sesgo” descritas a continuación y las variantes de “pares de carga” descritas a continuación), así como las “variantes de pl”, las cuales permiten la purificación de homodímeros lejos de la de los heterodímeros.

También puede utilizarse opcionalmente un mecanismo, generalmente denominado en la técnica “botones y ojales” (“KIH”) o a veces en la presente memoria variantes “sesgadas”, que se refiere a la ingeniería de aminoácidos que crea influencias estéricas y/o electrostáticas para favorecer la formación heterodimérica y desfavorecer la formación homodimérica, como se describe en Ridgway y col., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell y col., J. Mol. Biol. 1997 270:26; Patente estadounidense n.º 8.216.805, documento US-2012/0149876.

- Las figuras identifican una serie de pares de “monómero A - monómero B” que incluyen sustituciones de aminoácidos de “botones y ojales”. Además, como se describe en Merchant y col, Nature Biotech. 16:677 (1998), estas mutaciones de “botones y ojales” pueden combinarse con enlaces disulfuro para sesgar la formación hacia la heterodimerización. Son de utilidad T366S/L368A/Y407V emparejada con T366W, así como esta variante con un puente disulfuro, 5 T366S/L368A/Y407V/Y349C emparejada con T366W/S354C, particularmente en combinación con otras variantes de heterodimerización, incluidas las variantes de pl que se describen a continuación.
- Un mecanismo adicional que se utiliza en la generación de anticuerpos heterodiméricos se denomina a veces 10 “dirección electrostática” o “pares de carga”, como se describe en Gunasekaran y col., J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010).
- Esto a veces se denomina en la presente memoria “pares de carga”. En este ejemplo, se utiliza la electrostática para 15 sesgar la formación hacia la heterodimerización. Como apreciarán los expertos en la técnica, estos también pueden tener un efecto sobre el pl y, por lo tanto, sobre la purificación y, por lo tanto, en algunos casos también podrían considerarse variantes de pl. Sin embargo, como estos se generaron para forzar la heterodimerización y no se utilizaron como herramientas de purificación, se clasifican como “variantes estéricas”. Estos incluyen, entre otros, 20 D221E/P228E/L368E emparejados con D221R/P228R/K409R (por ejemplo, estos son “conjuntos correspondientes de monómeros) y C220E/P228E/368E emparejados con C220R/E224R/P228R/K409R y otros que se muestran en las figuras.
- En algunos ejemplos, se utilizan variantes de pl para alterar el pl de uno o ambos monómeros y permitir así la separación isoelectrónica de proteínas diméricas A-A, A-B y B-B. 25
- Existen varios mecanismos básicos que pueden facilitar la purificación de proteínas heterodiméricas; uno se basa en el uso de variantes de pl, de forma que cada monómero tiene un pl diferente, permitiendo así la purificación isoelectrónica de proteínas diméricas A-A, A-B y B-B. Alternativamente, algunos formatos de andamios, como el formato de “triple F”, también permiten la separación en función del tamaño. Como se describe con más detalle a continuación, también es posible “sesgar” la formación de los heterodímeros con respecto a los homodímeros. Por lo tanto, una combinación 30 de variantes de heterodimerización estérica y variantes de pl o par de carga encuentran un uso particular en la presente memoria. Además, como se describe con más detalle a continuación, los armazones que utilizan los scFv como el formato de Triple F pueden incluir conectores de scFv cargados (positivos o negativos), que dan un impulso adicional de pl con fines de favorecer la purificación. Como apreciarán los expertos en la materia, algunos formatos Triple F son útiles solo con enlazadores scFv cargados y sin ajustes adicionales de pl, aunque la descripción también contempla 35 el uso de variantes de sesgo con enlazadores scFv cargados (y combinaciones de variantes Fc, FcRn y KO comentadas en la presente memoria).
- En la presente descripción que utiliza el pl como mecanismo de separación para permitir la purificación de proteínas heterodiméricas, pueden introducirse variantes de aminoácidos en uno o ambos polipéptidos monoméricos; es decir, el pl de uno de los monómeros (denominado en la presente memoria “monómero A” para simplificar) puede 40 modificarse para alejarlo del monómero B, o pueden modificarse tanto el monómero A como el B, aumentando el pl del monómero A y disminuyendo el pl del monómero B. Como se describe con más detalle a continuación, los cambios de pl de uno o ambos monómeros pueden realizarse eliminando o añadiendo un residuo cargado (por ejemplo, un aminoácido neutro se sustituye por un residuo de aminoácido cargado positiva o negativamente, por ejemplo, glicina por ácido glutámico), cambiando un residuo cargado de positivo o negativo a la carga opuesta (por ejemplo, ácido aspártico por lisina) o cambiando un residuo cargado por un residuo neutro (por ejemplo, pérdida de una carga; lisina a serina). Varias de estas variantes se muestran en las figuras. Además, las variantes de pl adecuadas para su uso 45 en la creación de anticuerpos heterodiméricos en la presente memoria son aquellas que son isotípicas, por ejemplo, importando variantes de pl de diferentes isotipos de IgG de manera que se cambie el pl sin introducir inmunogenicidad significativa; véase la figura 29 de la publicación estadounidense n.º 20140288275.
- Por consiguiente, en este ejemplo, la descripción prevé la creación de un cambio suficiente en el pl de al menos uno de los monómeros, de manera que los heterodímeros puedan separarse de los homodímeros. Como apreciarán los 50 expertos en la técnica, y como se analiza a continuación, esto puede realizarse mediante el uso de una región constante de cadena pesada de “tipo salvaje” y una región variante modificada para aumentar o disminuir su pl (wt A- +B o wt A - -B), o al aumentar una región y disminuir la otra región (A + -B- o A- B+).
- Por tanto, en general, un componente de algunos ejemplos de la presente descripción son las variantes de 55 aminoácidos en las regiones constantes de los anticuerpos dirigidas a alterar el punto isoelectrónico (pl) de al menos uno, si no ambos, de los monómeros de una proteína dimérica para formar “heterodímeros pl” (cuando la proteína es un anticuerpo, se denominan “anticuerpos pl”) mediante la incorporación de sustituciones de aminoácidos (“variantes de pl” o “sustituciones pl”) en uno o ambos de los monómeros. Como se muestra en la presente memoria, la separación de los heterodímeros de los dos homodímeros puede lograrse si los pl de los dos monómeros difieren en tan solo 0,1 unidades de pH, con 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 o más, todos usados en la presente invención.
- Como apreciarán los expertos en la técnica, el número de variantes de pl que se incluirán en cada uno o ambos 60 monómeros para obtener una buena separación dependerá en parte del pl inicial del scFv y Fab de interés. Es decir,

para determinar qué monómero modificar o en qué “dirección” (por ejemplo, más positiva o más negativa), se calculan las secuencias Fv de los dos antígenos diana y se toma una decisión a partir de ahí. Como se conoce en la técnica, los diferentes Fv tendrán diferentes pl de partida, los cuales se explotan en la presente invención. En general, como se describe en la presente memoria, los pl se modifican para dar como resultado una diferencia de pl total de cada monómero de al menos aproximadamente 0,1 logaritmos, y de preferencia de 0,2 a 0,5 como se describe en la presente memoria.

Además, como apreciarán los expertos en la materia y se describe en la presente memoria, en algunos casos (dependiendo del formato) los heterodímeros pueden separarse de los homodímeros en función del tamaño (por ejemplo, el peso molecular). Por ejemplo, como se muestra en algunas realizaciones de la figura 1, algunos formatos dan lugar a homodímeros y heterodímeros con diferentes tamaños (p. ej., para los abrebotellas, un homodímero es un formato “scFv dual”, un homodímero es un anticuerpo estándar, y el heterodímero tiene un Fab y un scFv).

Además, como se representa en la figura 1, se reconocerá que es posible que algunos antígenos se unan de forma bivalente (p. ej., dos sitios de unión a un único antígeno). Como se apreciará, cualquier combinación de Fab y scFv puede utilizarse para lograr el resultado y las combinaciones deseadas.

En el caso de que se utilicen variantes de pl para conseguir heterodímeros purificados en lugar de homodímeros, mediante el uso de la región o regiones constantes de la cadena o cadenas pesadas, se proporciona una estrategia más modular para diseñar y purificar proteínas multiespecíficas, incluidos los anticuerpos. Por tanto, en algunos ejemplos, las variantes de heterodimerización (incluidas las variantes de heterodimerización de desviación y purificación) no se incluyen en las regiones variables, de modo que cada anticuerpo individual debe ser diseñado. Además, en algunos ejemplos, la posibilidad de inmunogenicidad resultante de las variantes de pl se reduce significativamente importando variantes de pl de diferentes isotipos de IgG de tal manera que se cambie el pl sin introducir inmunogenicidad significativa. Por tanto, un problema adicional a resolver es la elucidación de los dominios constantes de pl bajo con alto contenido de secuencia humana, por ejemplo, la minimización o evitación de los residuos no humanos en cualquier posición particular.

Un beneficio secundario que puede ocurrir con esta modificación de pl es también la extensión de la vida media en suero y el aumento de la unión al FcRn. Es decir, como se describe en el documento US 2012 -0028304 A1,

la reducción del pl de los dominios constantes de los anticuerpos (incluidos los que se encuentran en los anticuerpos y las fusiones Fc) puede dar lugar a una mayor retención en suero *in vivo*. Estas variantes de pl para aumentar la vida media en suero también facilitan los cambios del pl para la purificación.

Además, cabe señalar que las variantes de pl de las variantes de heterodimerización brindan un beneficio adicional para el proceso de análisis y control de calidad de los anticuerpos biespecíficos, ya que la capacidad de eliminar, minimizar y distinguir cuando los homodímeros están presentes es significativa. De manera similar, es importante la capacidad de probar de manera confiable la reproducibilidad de la producción de las proteínas heterodiméricas.

Como apreciarán los expertos en la materia, y como se explica más adelante, las proteínas de fusión heterodiméricas de la presente descripción pueden adoptar una amplia variedad de configuraciones, como se muestra en la figura 1. Algunas figuras representan configuraciones de “un solo extremo”, donde hay un tipo de especificidad en un “brazo” de la molécula y una especificidad diferente en el otro “brazo”. Otras figuras representan configuraciones de “extremos dobles”, donde hay al menos un tipo de especificidad en la “parte superior” de la molécula y una o más especificidades diferentes en la “parte inferior” de la molécula. Por lo tanto, la presente descripción se refiere a nuevas composiciones de inmunoglobulina que se acoplan simultáneamente a un primer y un segundo antígeno. Los antígenos primero y segundo de la invención se denominan en la presente memoria antígeno-1 y antígeno-2 respectivamente (o “punto de control-1” y “punto de control-2”).

Un armazón heterodimérico que se utiliza especialmente en la presente descripción es el formato de armazón de “triple F” o “abrebotellas”, como se muestra en la figura 1A. En este ejemplo, una cadena pesada del anticuerpo contiene un Fv monocatenario (“scFv”, como se define a continuación) y la otra cadena pesada es un formato de FAb “regular”, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera variables. Esta estructura a veces se denomina en la presente memoria formato “triple F” (scFv-Fab-Fc) o formato “abrebotellas”, debido a su similitud visual con un abrebotellas (véase la figura 1A). Las dos cadenas se unen mediante el uso de variantes de aminoácidos en las regiones constantes (por ejemplo, el dominio Fc y/o la región bisagra) que promueven la formación de anticuerpos heterodiméricos como se describe con más detalle a continuación.

Hay varias ventajas distintas en el actual formato de “triple F”. Como se conoce en la técnica, los análogos de anticuerpos que se basan en dos construcciones scFv a menudo tienen problemas de estabilidad y agregación, que pueden aliviarse en la presente invención mediante la adición de un apareamiento “regular” de cadenas pesadas y ligeras. Además, a diferencia de los formatos que se basan en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, no hay ningún problema con el emparejamiento incorrecto de las cadenas pesadas y ligeras (por ejemplo, el emparejamiento pesado 1 con ligero 2, etc.).

Además, como se describe en la presente memoria, pueden introducirse variantes de aminoácidos adicionales en los anticuerpos biespecíficos de la descripción, para añadir funcionalidades adicionales. Por ejemplo, se pueden añadir cambios de aminoácidos dentro de la región Fc (ya sea a un monómero o a ambos) para facilitar el aumento de la ADCC o la CDC (por ejemplo, alteración de la unión a los receptores Fcγ), así como para aumentar la unión a FcRn y/o aumentar la semivida sérica de las moléculas resultantes. Como se describe adicionalmente en la presente memoria y como apreciarán los expertos en la técnica, cualquiera y todas las variantes descritas en la presente memoria pueden combinarse opcional e independientemente con otras variantes.

Del mismo modo, otra categoría de variantes funcionales son las “variantes de supresión de Fcγ” o “variantes de desactivación génica de Fc (FcKO o KO)”. Para algunas aplicaciones terapéuticas, es deseable reducir o eliminar la unión normal del dominio Fc a uno o más o a todos los receptores Fcγ (p. ej. FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, etc.) para evitar mecanismos de acción adicionales. Es decir, por ejemplo, generalmente es deseable eliminar la unión de FcγRIIIa para eliminar o reducir significativamente la actividad de ADCC. Las variantes de supresión adecuadas se muestran en la figura 5.

15 C. Nomenclatura

Los anticuerpos biespecíficos de la descripción se presentan en varios formatos diferentes. A cada polipéptido se le asigna un número “XENP” único, aunque como se apreciará en la técnica, una secuencia más larga puede contener una más corta. Por ejemplo, la cadena pesada del monómero lateral scFv de un formato abrebotellas para una secuencia dada tendrá un primer número XENP, mientras que el dominio scFv tendrá un número XENP diferente. Algunas moléculas tienen tres polipéptidos, por lo que el número XENP, con los componentes, se utiliza como nombre. Por tanto, la molécula XENP20717, que está en formato abrebotellas, comprende tres secuencias, generalmente denominadas “XENP20717 HC-Fab”, XENP20717 HC-scFv” y “XENP20717 LC” o equivalentes, aunque un experto en la materia podría identificarlas fácilmente mediante la alineación de secuencias. Estos números XENP figuran en la lista de secuencias como identificadores y se utilizan en las figuras. Además, una molécula, formada por los tres componentes, da lugar a múltiples identificadores de secuencia. Por ejemplo, el listado del monómero Fab tiene la secuencia de longitud completa, la secuencia pesada variable y las tres CDR de la secuencia pesada variable; la cadena ligera tiene una secuencia de longitud completa, una secuencia ligera variable y las tres CDR de la secuencia ligera variable; y el dominio scFv-Fc tiene una secuencia de longitud completa, una secuencia scFv, una secuencia ligera variable, 3 CDR ligeras, un enlazador scFv, una secuencia pesada variable y 3 CDR pesadas; Nótese que todas las moléculas de la presente memoria con un dominio scFv utilizan un enlazador scFv de carga única (+H), aunque pueden utilizarse otros. Además, la nomenclatura de determinados dominios variables utiliza un formato del tipo “Hx.xx_Ly.yy”, en el que los números son identificadores únicos de determinadas secuencias de cadenas variables. Por tanto, el dominio variable de la cara Fab de XENP22841 es “7G8_H3.30 _L1.34”, lo que indica que el dominio variable pesado H3.30 se combinó con el dominio ligero L1.34. En el caso de que estas secuencias se utilicen como scFv, la designación “7G8_H3.30 _L1.34”, indica que el dominio pesado variable H3.30 se combinó con el dominio ligero L1.34 y está en orientación vh-enlazador-vl, de aminoterminal a carboxiloterminal. Esta molécula con las secuencias idénticas de los dominios variables pesado y ligero pero en el orden inverso se denominaría “7G8_L1.34_H3.30”. Del mismo modo, diferentes construcciones pueden “mezclar y combinar” las cadenas pesadas y ligeras, como se desprende del listado de secuencias y de las figuras.

D. Definiciones

45 Para que la solicitud se entienda más completamente, a continuación se exponen varias definiciones. Dichas definiciones están destinadas a abarcar los equivalentes gramaticales.

Por “supresión” en la presente memoria se entiende una disminución o eliminación de la actividad. Por tanto, por ejemplo, “supresión de la unión FcγR” significa que la variante de aminoácido de la región Fc tiene menos del 50 % de unión inicial en comparación con una región Fc que no contenga la variante específica, siendo preferible una pérdida de actividad superior al 70-80-90-95-98 % y, en general, que la actividad esté por debajo del nivel de unión detectable en un ensayo Biacore, SPR o BLI. De especial utilidad en la supresión de la unión a FcγR son los que se muestran en la figura 5, que generalmente se añaden a ambos monómeros.

55 Por “ADCC” o “citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos”, como se usa en la presente memoria, se entiende la reacción mediada por células en la que las células citotóxicas no específicas que expresan los FcγR reconocen el anticuerpo unido a una célula diana y posteriormente causan la lisis de la célula diana. La ADCC está correlacionada con la unión a FcγRIIIa; una mayor unión a FcγRIIIa conduce a un aumento de la actividad ADCC.

60 Por “ADCP” o fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende la reacción mediada por células en la que células fagocíticas inespecíficas que expresan FcγR reconocen el anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente provocan la fagocitosis de la célula diana.

65 Por “dominio de unión a antígeno” o “ABD” se entiende en la presente memoria un conjunto de seis regiones determinantes de la complementariedad (CDR) que, cuando están presentes como parte de una secuencia polipeptídica, se unen específicamente a un antígeno diana como se discute en la presente memoria. Por tanto, un

“dominio de unión a antígeno de punto de control” se une a un antígeno de punto de control diana como se describe en la presente memoria. Como es conocido en la técnica, estas CDR están generalmente presentes como un primer conjunto de CDR pesadas variables (vhCDR o VHCDR) y un segundo conjunto de CDR ligeras variables (vlCDR o VLCDR), cada uno comprendiendo tres CDR: vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3 para la cadena pesada y vlCDR1, vlCDR2 y vlCDR3 para la ligera. Las CDR están presentes en los dominios variable pesado y variable ligero, respectivamente, y juntos forman una región Fv. (Véanse los esquemas de numeración de las CDR en la tabla 1 y en el análisis anterior). Por tanto, en algunos casos, las seis CDR del dominio de unión a antígeno se aportan por un dominio variable pesado y un dominio variable ligero. En un formato “Fab”, el conjunto de 6 CDR es aportado por dos secuencias polipeptídicas diferentes, el dominio pesado variable (vh o VH; que contiene las vhCDR1, vhCDR2 y vhCDR3) y el dominio ligero variable (vl o VL; que contiene la vlCDR1, vlCDR2 y vlCDR3), con el carboxiloterminal del dominio vh unido al aminoterinal del dominio CH1 de la cadena pesada y el carboxiloterminal del dominio vl unido al aminoterinal del dominio ligero constante (y formando así la cadena ligera). En un formato scFv, los dominios vh y vl se unen covalentemente, generalmente mediante el uso de un enlazador (un “enlazador scFv”) como se describe en la presente memoria, en una única secuencia polipeptídica, que puede ser (empezando por el extremo N) vh-enlazador-vl o vl-enlazador-vh, siendo preferiblemente el primero (incluyendo enlazadores de dominio opcionales a cada lado, dependiendo del formato utilizado (p. ej. de la figura 1). En general, el carboxiloterminal del dominio scFv está unido al aminoterinal de la bisagra en el segundo monómero.

Por “modificación” en la presente memoria se entiende una sustitución, inserción y/o eliminación de aminoácidos en una secuencia polipeptídica o una alteración de una porción unida químicamente a una proteína. Por ejemplo, una modificación puede ser un carbohidrato alterado o una estructura de PEG unida a una proteína. Por “modificación de aminoácido” en la presente memoria se entiende una sustitución, inserción y/o eliminación de aminoácidos en una secuencia polipeptídica. Para mayor claridad, a menos que se indique lo contrario, la modificación de aminoácidos es siempre a un aminoácido codificado por ADN, por ejemplo, los 20 aminoácidos que tienen codones en ADN y ARN.

Por “sustitución de aminoácido” o “sustitución” en la presente memoria se entiende el reemplazo de un aminoácido en una posición particular en una secuencia polipeptídica original con un aminoácido diferente. En particular, en algunas realizaciones, la sustitución es por un aminoácido que no se encuentra de forma natural en la posición particular, ni de forma natural dentro del organismo ni en ningún organismo. Por ejemplo, la sustitución E272Y se refiere a un polipéptido variante, en este caso una variante de Fc, en la cual se reemplaza el ácido glutámico en la posición 272 con la tirosina. Para mayor claridad, una proteína que ha sido modificada para cambiar la secuencia de codificación del ácido nucleico pero no el aminoácido inicial (por ejemplo, cambiando CGG (que codifica arginina) por CGA (que sigue codificando arginina) para aumentar los niveles de expresión del organismo hospedador) no es una “sustitución de aminoácidos”; es decir, a pesar de la creación de un nuevo gen que codifica la misma proteína, si la proteína tiene el mismo aminoácido en la posición concreta con la que empezó, no se trata de una sustitución de aminoácidos.

Por “inserción de aminoácidos” o “inserción”, como se usa en la presente memoria, se entiende la adición de un aminoácido en una posición particular en una secuencia de polipéptido original. Por ejemplo, -233E o 233E designa una inserción de ácido glutámico después de la posición 233 y antes de la posición 234. Además, -233ADE o A233ADE designa una inserción de AlaAspGlu después de la posición 233 y antes de la posición 234.

Por “eliminación de aminoácido” o “eliminación” como se usa en la presente memoria se entiende la eliminación de una secuencia de aminoácido en una posición particular en una secuencia polipeptídica original. Por ejemplo, E233- o E233#, E233(), o E233del designa una eliminación de ácido glutámico en la posición 233. Además, EDA233- o EDA233 # designa una eliminación de la secuencia GluAspAla que comienza en la posición 233.

Por “proteína variante”, o “variante proteica” o “variante”, como se usa en la presente memoria, se entiende una proteína que difiere de una proteína original en virtud de al menos una modificación de aminoácido. La variante de proteína tiene al menos una modificación de aminoácidos en comparación con la proteína original, pero no tantas como para que la proteína variante no se alinee con la proteína original utilizando un programa de alineación como el que se describe a continuación. En general, las proteínas variantes (como los dominios Fc variantes, etc., descritos en la presente memoria, son generalmente al menos 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idénticas a la proteína original, utilizando los programas de alineación descritos a continuación, como BLAST.

Como se describe a continuación, en algunos ejemplos el polipéptido original, por ejemplo un polipéptido original Fc, es una secuencia humana de tipo salvaje, como el dominio constante pesado o la región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, aunque también pueden servir como “polipéptidos originales” secuencias humanas con variantes, por ejemplo el híbrido IgG1/2 de la publicación US 2006/0134105. La secuencia variante de la proteína en la presente memoria poseerá preferiblemente al menos aproximadamente un 80 % de identidad con una secuencia de proteína original, y más preferiblemente al menos aproximadamente un 90 % de identidad, más preferiblemente al menos aproximadamente un 95-98-99 % de identidad. Por consiguiente, por “variante de anticuerpo” o “anticuerpo variante” como se usa en la presente memoria se entiende un anticuerpo que difiere de un anticuerpo original en virtud de al menos una modificación de aminoácido, “IgG variante” o “variante de IgG” como se usa en la presente memoria significa un anticuerpo que difiere de una IgG original (de nuevo, en muchos casos, de una secuencia de IgG humana) en virtud de al menos una modificación de aminoácido, y “variante de inmunoglobulina” o “inmunoglobulina variante”

como se usa en la presente memoria, se refiere a una secuencia de inmunoglobulina que difiere de la de una secuencia de inmunoglobulina original en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. Por “variante Fc” o “Fc variante”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende una proteína que comprende una modificación aminoacídica en un dominio Fc en comparación con un dominio Fc de IgG1, IgG2 o IgG4 humana.

- 5 Las variantes Fc de la presente descripción se definen según las modificaciones de aminoácidos que las componen. Por tanto, por ejemplo, N434S o 434S es una variante de Fc con la sustitución de serina en la posición 434, con respecto al polipéptido Fc original, en donde la numeración está según el índice EU. Del mismo modo, la modificación M428L/N434S define una variante de Fc con las sustituciones M428L y N434S con respecto al polipéptido Fc original.
- 10 La identidad del aminoácido WT puede no estar especificada, en cuyo caso la variante mencionada anteriormente se denomina 428L/434S. Se observa que el orden en que se proporcionan las sustituciones es arbitrario, es decir, que, por ejemplo, N434S/M428L es la misma variante de Fc que M428L/N434S, etc. Para todas las posiciones analizadas en la presente invención que se relacionan con anticuerpos, a menos que se indique lo contrario, la numeración de las posiciones de los aminoácidos está según el índice EU. El índice EU o índice EU como en Kabat o esquema de numeración de EU se refiere a la numeración del anticuerpo EU. Por otra parte, Kabat y otros colectaron numerosas secuencias primarias de las regiones variables de las cadenas pesadas y las cadenas ligeras. Basándose en el grado de conservación de las secuencias, clasificaron las secuencias primarias individuales en CDR y marco y confeccionaron una lista de las mismas (véase SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5.^a edición, publicación NIH, n.^o 91-3242, E.A. Kabat y col.). Véase también Edelman y col., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78 - 85. La modificación puede ser una adición, eliminación o sustitución.

20 Por “proteína” se entiende en la presente memoria al menos dos aminoácidos unidos covalentemente, lo que incluye proteínas, polipéptidos, oligopéptidos y péptidos. Además, los polipéptidos que componen los anticuerpos de la descripción pueden incluir derivatización sintética de una o más cadenas laterales o terminales, glucosilación, PEGilación, permutación circular, ciclación, enlazadores a otras moléculas, fusión a proteínas o dominios proteicos, y adición de etiquetas o rótulos peptídicos.

25 Por “residuo” como se usa en la presente memoria se entiende una posición en una proteína y su identidad de aminoácido asociada. Por ejemplo, la Asparagina 297 (también denominada Asn297, también denominada N297) es un residuo en la posición 297 en el anticuerpo humano IgG1.

30 Por “Fab” o “región Fab”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende el polipéptido que comprende los dominios de inmunoglobulina VH, CH1, VL y CL, generalmente en dos cadenas polipeptídicas diferentes (p. ej. VH-CH1 en una cadena y VL-CL en la otra). Fab puede referirse a esta región de forma aislada, o a esta región en el contexto de un anticuerpo biespecífico de la invención. En el contexto de un Fab, el Fab comprende una región Fv además de los dominios CH1 y CL.

35 Por “Fv” o “fragmento Fv” o “región Fv”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende un polipéptido que comprende los dominios VL y VH de un ABD. Las regiones Fv pueden formarse tanto como Fab (como se discutió anteriormente, generalmente dos polipéptidos diferentes que también incluyen las regiones constantes como se describió anteriormente) y scFv, donde los dominios VL y VH se combinan (generalmente con un enlazador como se discutió en la presente memoria) para formar un scFv.

40 Por “Fv monocatenario” o “scFv” se entiende en la presente memoria un dominio pesado variable unido covalentemente a un dominio ligero variable, generalmente utilizando un enlazador de scFv como se discute en la presente memoria, para formar un scFv o dominio scFv. Un dominio scFv puede estar en cualquier orientación de aminoterminal a carboxiloterminal (vh-enlazador-vl o vl-enlazador-vh). En las secuencias representadas en el listado de secuencias y en las figuras, el orden del dominio VH y VL se indica en el nombre, p. ej. H.X_L.Y de aminoterminal a carboxiloterminal es vh-enlazador-vl, y L.Y_H.X es VL-enlazador-vh.

45 Por “modificación de subclase de IgG” o “modificación de isotipo” como se usa en la presente memoria, se entiende una modificación de aminoácido que convierte un aminoácido de un isotipo de IgG en el aminoácido correspondiente en un isotipo de IgG alineado diferente. Por ejemplo, debido a que la IgG1 comprende una tirosina y la IgG2 una fenilalanina en la posición 296 de la UE, una sustitución F296Y en la IgG2 se considera una modificación de la subclase de la IgG.

50 Por “modificación de origen no natural”, como se usa en la presente memoria, se entiende una modificación de aminoácido que no es isotípica. Por ejemplo, dado que ninguna de las IgG humanas comprende una serina en la posición 434, la sustitución 434S en IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 (o sus híbridos) se considera una modificación no natural.

55 Por “aminoácido” e “identidad de aminoácidos”, como se usa en la presente memoria, se entiende uno de los 20 aminoácidos de origen natural que están codificados por el ADN y ARN.

60 Por “función efectora” como se usa en la presente memoria se entiende un evento bioquímico que resulta de la interacción de una región Fc de un anticuerpo con un receptor Fc o ligando. Las funciones efectoras incluyen, entre otras, la ADCC, ADCP y CDC.

Por “ligando de Fc de IgG”, como se usa en la presente memoria, se entiende una molécula, preferiblemente un polipéptido, de cualquier organismo que se une a la región Fc de un anticuerpo IgG para formar un complejo de ligando Fc/Fc. Los ligandos de Fc incluyen, entre otros, los FcγRI, FcγRII, FcγRIII, FcRn, C1q, C3, lectina de unión a manosa, receptor de manosa, proteína A de estafilococo, proteína G de estreptococo y FcγR viral. Los ligandos de Fc también incluyen homólogos del receptor de Fc (FcRH), que son una familia de receptores de Fc que son homólogos a los FcγR (Davis et al., 2002, Immunological Reviews 190: 123-136). Los ligandos de Fc pueden incluir moléculas no descubiertas que se unen a Fc. Los ligandos de Fc de IgG particulares son los receptores FcRn y Fc gamma. Por “ligando de Fc”, como se usa en la presente memoria, se entiende una molécula, preferiblemente un polipéptido, de cualquier organismo que se une a la región Fc de un anticuerpo para formar un complejo de ligando Fc/Fc.

Por “receptor Fc gamma” o “FcγR”, como se usa en la presente memoria, se entiende cualquier miembro de la familia de las proteínas que se unen a la región Fc del anticuerpo IgG y están codificadas por un gen de FcγR. En humanos, esta familia incluye, pero sin limitación, FcγRI (CD64), incluidas las isoformas FcγRIa, FcγRIb y FcγRIc; FcγRII (CD32), incluidas las isoformas FcγRIIa (incluidos los alotipos H131 y R131), FcγRIIb (incluidos FcγRIIb-1 y FcγRIIb-2) y FcγRIIc; y FcγRIII (CD16), incluidas las isoformas de FcγRIIIa (incluidos los alotipos V158 y F158) y FcγRIIIb (incluidos los alotipos FcγRIIb-NA1 y FcγRIIb-NA2) (Jefferis y col., 2002, Immunol Lett 82:57-65), así como cualquier FcγR o isoforma o alotipo de FcγR humano no descubierto. Un FcγR puede ser de cualquier organismo, que incluye, pero sin limitarse a, seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Los FcγR de ratón incluyen, entre otros, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16) y FcγRIII-2 (CD16-2), así como cualquier FcγR de ratón no descubierto o isoformas o alotipos de FcγR.

Por “FcRn” o “receptor Fc neonatal”, como se usa en la presente memoria, se entiende una proteína que se une a la región Fc del anticuerpo IgG y está codificada al menos en parte por un gen FcRn. El FcRn puede ser de cualquier organismo, que incluye, pero sin limitarse a, humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Como se conoce en la técnica, la proteína FcRn funcional comprende dos polipéptidos, a menudo denominados cadena pesada y cadena ligera. La cadena ligera es la beta-2-microglobulina y la cadena pesada está codificada por el gen FcRn. A menos que se indique lo contrario, en la presente memoria el FcRn o una proteína FcRn se refiere al complejo de la cadena pesada de FcRn con la beta-2-microglobulina. Diversas variantes del FcRn utilizadas para aumentar la unión al receptor FcRn y, en algunos casos, para aumentar la semivida sérica. Una “variante FcRn” es aquella que aumenta la unión al receptor FcRn, y las variantes de FcRn adecuadas se muestran a continuación.

Por “polipéptido original”, como se usa en la presente memoria, se entiende un polipéptido de partida que se modifica posteriormente para generar una variante. El polipéptido original puede ser un polipéptido de origen natural, o una variante o versión modificada de un polipéptido de origen natural. Por consiguiente, por “inmunoglobulina original” como se usa en la presente memoria se entiende un polipéptido de inmunoglobulina no modificado que se modifica para generar una variante, y por “anticuerpo original” como se usa en la presente memoria, se entiende un anticuerpo no modificado que se modifica para generar un anticuerpo variante. Cabe señalar que “anticuerpo original” incluye anticuerpos comerciales conocidos producidos de forma recombinante como se describe a continuación. En este contexto, un “dominio Fc original” será relativo a la variante recitada; así, una “variante del dominio Fc de IgG1 humana” se compara con el dominio Fc original de IgG1 humana, una “variante del dominio Fc de IgG4 humana” se compara con el dominio Fc original de IgG4 humana, etc.

Por “Fc” o “región Fc” o “dominio Fc”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende el polipéptido que comprende los dominios CH2-CH3 de una molécula IgG y, en algunos casos, incluida la bisagra. En la numeración de EU para la IgG1 humana, el dominio CH2-CH3 comprende los aminoácidos 231 a 447, y la bisagra es de 216 a 230. Por tanto, la definición de “dominio Fc” incluye tanto los aminoácidos 231-447 (CH2-CH3) o 216-447 (bisagra-CH2-CH3), o fragmentos de los mismos. Un “fragmento Fc” en este contexto puede contener menos aminoácidos de uno o ambos de los extremos aminoterminales y carboxiloterminales, pero aún conserva la capacidad de formar un dímero con otro dominio Fc o fragmento Fc como puede detectarse utilizando métodos estándar, generalmente basados en el tamaño (por ejemplo, cromatografía no desnaturalizante, cromatografía de exclusión por tamaño, etc.). Los dominios Fc de IgG humana son de uso particular en la presente invención, y pueden ser el dominio Fc de IgG1, IgG2 o IgG4 humana.

Un “dominio Fc variante” contiene modificaciones de aminoácidos en comparación con un dominio Fc original. Por tanto, una “variante del dominio Fc IgG1 humano” es aquella que contiene modificaciones de aminoácidos (generalmente sustituciones de aminoácidos, aunque en el caso de las variantes de supresión se incluyen eliminaciones de aminoácidos) en comparación con el dominio Fc de IgG1 humana. En general, los dominios Fc variantes tienen al menos un 80, 85, 90, 95, 97, 98 o 99 por ciento de identidad con el correspondiente dominio Fc de IgG humana original (utilizando los algoritmos de identidad que se comentan a continuación, con un ejemplo utilizando el algoritmo BLAST como es conocido en la técnica, utilizando parámetros por defecto). Como alternativa, los dominios Fc variantes pueden tener de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 modificaciones de aminoácidos en comparación con el dominio Fc original. Además, como se analiza en la presente memoria, los dominios Fc variantes en la presente memoria aún conservan la capacidad de formar un dímero con otro dominio Fc como se mide utilizando técnicas conocidas como se describe en la presente memoria, tales como electroforesis en gel no desnaturalizante.

- Por “región constante de la cadena pesada” se entiende en la presente memoria la porción CH1-bisagra-CH2-CH3 de un anticuerpo (o fragmentos del mismo), excluyendo el dominio pesado variable; en la numeración de EU de la IgG1 humana se trata de los aminoácidos 118-447. Por “fragmento de región constante de cadena pesada” en la presente memoria se entiende una región constante de cadena pesada que contiene menos aminoácidos de uno de los extremos aminoterminal o carboxiloterminal, o de ambos, pero que aún conserva la capacidad de formar un dímero con otra región constante de cadena pesada.
- Por “posición” como se usa en la presente memoria se entiende una ubicación en la secuencia de una proteína. Las posiciones pueden numerarse secuencialmente, o según un formato establecido, por ejemplo, el índice EU para la numeración de los anticuerpos.
- Por “antígeno diana”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende la molécula que está unida específicamente al dominio de unión a antígeno que comprende las regiones variables de un anticuerpo dado. Como se expone más adelante, en el presente caso los antígenos diana son proteínas inhibidoras del punto de control.
- Por “capacidad de concatenación” en el contexto de los monómeros de los anticuerpos heterodiméricos de la invención en la presente memoria se entiende que, de forma similar a las dos hebras de ADN que “coinciden”, las variantes de heterodimerización se incorporan en cada monómero para preservar la capacidad de “coincidir” para formar heterodímeros. Por ejemplo, si algunas variantes de pl se modifican en el monómero A (por ejemplo, al hacer que el pl sea más alto), las variantes estéricas que son “pares de carga”, que también pueden utilizarse no interfieren con las variantes de pl, por ejemplo, las variantes de carga que forman un pl superiores se colocan en la misma “hebra” o “monómero” para preservar ambas funcionalidades. Del mismo modo, para las variantes “sesgadas” que vienen en pares de un conjunto como se describe más detalladamente a continuación, el artesano experto tendrá en cuenta el pl para decidir en qué hebra o monómero irá un conjunto del par, de modo que la separación del pl se maximice utilizando también el pl de los sesgos.
- Por “célula diana”, como se usa en la presente memoria, se entiende una célula que expresa un antígeno diana.
- Por “célula hospedadora” en el contexto de la producción de un anticuerpo biespecífico según la invención en la presente memoria se entiende una célula que contiene los ácidos nucleicos exógenos que codifican los componentes del anticuerpo biespecífico y es capaz de expresar el anticuerpo biespecífico en condiciones adecuadas. A continuación se describen las células hospedadoras adecuadas.
- Por “región variable” o “dominio variable”, tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende la región de una inmunoglobulina que comprende uno o más dominios Ig codificados sustancialmente por cualquiera de los genes V_k , V_{λ} y/o V_H que componen los locus genéticos de las inmunoglobulinas de cadena kappa, lambda y pesada, respectivamente, y contiene las CDR que confieren especificidad antigenica. Por tanto, un “dominio pesado variable” se empareja con un “dominio ligero variable” para formar un dominio de unión a antígeno (“ABD”). Además, cada dominio variable comprende tres regiones hipervariables (“regiones determinantes de la complementariedad”, “CDR”) ($vhCDR1$, $vhCDR2$ y $vhCDR3$ para el dominio variable pesado y $vlCDR1$, $vlCDR2$ y $vlCDR3$ para el dominio variable ligero) y cuatro regiones marco (FR), dispuestas desde el aminoterminal al carboxiloterminal en el siguiente orden: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.
- Por “tipo salvaje o WT” en la presente memoria se entiende una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que se encuentra en la naturaleza, y que incluye las variaciones alélicas. Una proteína WT tiene una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que no se ha modificado intencionalmente.
- La invención proporciona una serie de dominios de anticuerpos que tienen identidad de secuencia con los dominios de anticuerpos humanos. La identidad de secuencias entre dos secuencias similares (p. ej., dominios variables de anticuerpos) puede medirse mediante algoritmos como el de Smith, T.F. y Waterman, M.S. (1981) “Comparison Of Biosequences,” Adv. Appl. Math. 2:482 [algoritmo de homología local]; Needleman, S.B. y Wunsch, C.D. (1970) “A General Method Applicable To The Search For Similarities In The Amino Acid Sequence Of Two Proteins,” J. Mol. Biol. 48:443 [algoritmo de alineación por homología], Pearson, W.R. y Lipman, D.J. (1988) “Improved Tools For Biological Sequence Comparison,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 85:2444 [método de búsqueda de similitudes]; o Altschul, S.F. y col, (1990) “Basic Local Alignment Search Tool,” J. Mol. Biol. 215:403-10, el algoritmo “BLAST”, véase <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Al utilizar cualquiera de los algoritmos mencionados, se utilizan los parámetros por defecto (para longitud de ventana, penalización por hueco, etc.). En un ejemplo, la identidad de secuencias se realiza mediante el algoritmo BLAST, utilizando los parámetros por defecto.
- Los anticuerpos de la presente invención son generalmente aislados o recombinantes. El término “aislado”, cuando se usa para describir los diversos polipéptidos descritos en la presente memoria, significa un polipéptido previamente identificado y separado y/o recuperado a partir de una célula o cultivo celular, a partir del cual se expresó. Normalmente, un polipéptido aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación. Un “anticuerpo aislado” se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes

especificidades antigenicas. "Recombinante" significa que los anticuerpos se generan mediante técnicas de ácido nucleico recombinante en células hospedadoras exógenas, y que también pueden aislarse.

El término "unión específica" o "se une específicamente a" o es "específico para" un antígeno o un epítopo particular significa una unión que es mediblemente diferente de una interacción no específica. La unión específica puede medirse, por ejemplo, al determinar la unión de una molécula en comparación con la unión de una molécula de control, la cual generalmente es una molécula de estructura similar que no tiene actividad de unión. Por ejemplo, la unión específica puede determinarse por la competencia con una molécula de control que sea similar a la diana.

La unión específica para un antígeno particular o un epítopo puede exhibirse, por ejemplo, por un anticuerpo que tiene una KD para un antígeno o epítopo de al menos aproximadamente 10^{-4} M, al menos aproximadamente 10^{-5} M, al menos aproximadamente 10^{-6} M, al menos aproximadamente 10^{-7} M, al menos aproximadamente 10^{-8} M, al menos aproximadamente 10^{-9} M, como alternativa al menos aproximadamente 10^{-10} M, al menos aproximadamente 10^{-11} M, al menos aproximadamente 10^{-12} M, o mayor, donde KD se refiere a una velocidad de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. Normalmente, un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno tendrá una KD que es de 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10 000- o más veces mayor para una molécula de control con respecto al antígeno o epítopo.

Además, la unión específica para un antígeno o un epítopo particular puede exhibirse, por ejemplo, por un anticuerpo que tiene una KA o Ka para un antígeno o epítopo de al menos 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10 000- o más veces mayor para el epítopo con respecto a un control, donde KA o Ka se refiere a una tasa de asociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. La afinidad de unión se mide generalmente mediante un ensayo Biacore, SPR o BLI.

E. Anticuerpos

La presente descripción se refiere a la generación de anticuerpos de punto de control biespecíficos que se unen a dos antígenos de punto de control diferentes como se expone en la presente memoria. Como se analiza a continuación, el término "anticuerpo" se usa generalmente. Los anticuerpos que se utilizan en la presente descripción pueden adoptar diversos formatos, como se describe en la presente memoria, incluidos los anticuerpos tradicionales, así como los derivados, fragmentos y miméticos de anticuerpos, descritos en la presente memoria y representados en las figuras.

Las unidades estructurales de los anticuerpos tradicionales típicamente comprenden un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto típicamente por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, cada par tiene una cadena "ligera" (que típicamente tiene un peso molecular de aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" (que típicamente tiene un peso molecular de aproximadamente 50-70 kDa). Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda. La presente descripción se refiere a anticuerpos biespecíficos que generalmente se basan en la clase IgG, que tiene varias subclases, incluyendo, pero sin limitarse a, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En general, las IgG1, IgG2 e IgG4 se utilizan con más frecuencia que las IgG3. Cabe señalar que la IgG1 tiene diferentes alotipos con polimorfismos en 356 (D o E) y 358 (L o M). Las secuencias representadas en la presente memoria utilizan el alotipo 356E/358M, sin embargo en la presente memoria se incluye el otro alotipo. Es decir, cualquier secuencia que incluya un dominio Fc de IgG1 incluido en la presente memoria puede tener 356D/358L en sustitución del alotipo 356E/358M.

Además, muchos de los anticuerpos en la presente memoria tienen al menos una de las cisteínas en la posición 220 sustituida por una serina; generalmente es el lado del "monómero scFv" para la mayoría de las secuencias representadas en la presente memoria, aunque también puede ser el lado del "monómero Fab", o ambos, para reducir la formación de disulfuro. Se incluyen específicamente dentro de las secuencias en la presente memoria una o ambas de estas cisteínas reemplazadas (C220S).

Por "isotipo", como se usa en la presente memoria, se entiende cualquiera de las subclases de inmunoglobulinas definidas por las características químicas y antigenicas de sus regiones constantes. Debe entenderse que los anticuerpos terapéuticos también pueden comprender híbridos de isotipos y/o subclases. Por ejemplo, como se muestra en la publicación US 2009/0163699, la presente descripción el uso de híbridos IgG1/G2 humanos.

La región hipervariable generalmente abarca residuos de aminoácidos desde aproximadamente los residuos de aminoácidos 24-34 (LCDR1; "L" denota cadena ligera), 50-56 (LCDR2) y 89-97 (LCDR3) en la región variable de la cadena ligera y aproximadamente de 31-35B (HCDR1; "H" significa cadena pesada), 50-65 (HCDR2) y 95-102 (HCDR3) en la región variable de la cadena pesada; Kabat y col., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5.^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) y/o los residuos que forman un bucle hipervariable (por ejemplo, los residuos 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) y 91-96 (LCDR3) en la región variable de la cadena ligera y 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) y 96-101 (HCDR3) en la región variable de la cadena pesada; Chothia y Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. Las CDR específicas de la invención se describen a continuación.

Como podrán apreciar los expertos en la materia, la numeración exacta y la colocación de las CDR pueden variar según los distintos sistemas de numeración. Sin embargo, debe entenderse que la descripción de una secuencia

variable pesada y/o variable ligera incluye la descripción de las CDR (inherentes) asociadas. Por consiguiente, la descripción de cada región pesada variable es una descripción de las vhCDR (por ejemplo, vhCDR1, vhCDR2 y vhCDR3) y la descripción de cada región ligera variable es una descripción de las vlCDR (por ejemplo, vlCDR1, vlCDR2 y vlCDR3). Una comparación útil de la numeración CDR es la siguiente, véase Lafranc y col., Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003):

Tabla 1

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact	Xencor
vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35	27-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58	54-61
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101	103-116
vlCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36	27-38
vlCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55	56-62
vlCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96	97-105

A lo largo de la presente descripción, el sistema de numeración de Kabat se usa generalmente cuando se hace referencia a un residuo en el dominio variable (aproximadamente, los residuos del 1-107 de la región variable de la cadena ligera y los residuos del 1-113 de la región variable de cadena pesada) y el sistema de numeración EU para las regiones Fc (por ejemplo, Kabat y otros, supra (1991)).

Otro tipo de dominio de Ig de la cadena pesada es la región bisagra. Por “bisagra” o “región bisagra” o “región bisagra del anticuerpo” o “dominio bisagra” se entiende en la presente memoria el polipéptido flexible que comprende los aminoácidos entre el primer y segundo dominios constantes de un anticuerpo. Estructuralmente, el dominio CH1 de la IgG termina en la posición EU 215, y el dominio CH2 de la IgG comienza en el residuo EU 231. De este modo, para la IgG, la bisagra del anticuerpo se define en la presente memoria para incluir las posiciones de la 216 (E216 en la IgG1) a la 230 (p230 en la IgG1), en donde la numeración está según el índice EU como en el Kabat. En algunos casos, se utiliza un “fragmento bisagra”, que contiene menos aminoácidos en uno o ambos extremos aminoterminal y carboxiloterminal del dominio bisagra. Como se indica en la presente memoria, también pueden prepararse las variantes de pl en la región bisagra.

La cadena ligera generalmente comprende dos dominios, el dominio ligero variable (que contiene las CDR de la cadena ligera y junto con los dominios pesados variables que forman la región Fv), y una región de la cadena ligera constante (a menudo denominada CL o Ck).

Otra región de interés para las sustituciones adicionales, descrita a continuación, es la región Fc.

La presente descripción proporciona un gran número de conjuntos de CDR diferentes. En este caso, un “conjunto de CDR completo” comprende las tres CDR ligeras variables y las tres pesadas variables, por ejemplo, una vlCDR1, vlCDR2, vlCDR3, vhCDR1, vhCDR2 y vhCDR3. Estas pueden ser parte de un dominio ligero variable o pesado variable más grande, respectivamente. Además, como se describe más completamente en la presente memoria, los dominios pesados variables y ligeros variables pueden estar en cadenas polipeptídicas separadas, cuando se usa una cadena pesada y ligera (por ejemplo, cuando se usan Fab), o en una sola cadena polipeptídica en el caso de secuencias scFv.

Las CDR contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno, o más específicamente, al sitio de unión de los anticuerpos al epítopo. El término “epítopo” se refiere a un determinante que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátopo. Los epitopos son agrupaciones de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y generalmente tienen características estructurales específicas, así como características de carga específicas. Un solo antígeno puede tener más de un epítopo.

El epítopo puede comprender residuos de aminoácidos directamente implicados en la unión (también llamado componente inmunodominante del epítopo) y otros residuos de aminoácidos, que no están directamente implicados en la unión, tales como los residuos de aminoácidos que son bloqueados de manera eficaz por el péptido que se une específicamente al antígeno; en otras palabras, el residuo de aminoácido está dentro de la huella del péptido que se une específicamente al antígeno.

Los epitopos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítopo conformacional se produce mediante los aminoácidos yuxtapuestos espacialmente a partir de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítopo lineal es uno producido por los residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. Los epitopos conformacionales y no conformacionales pueden distinguirse en que la unión al primero, pero no al segundo se pierde en presencia de disolventes desnaturalizantes.

- Un epítopo incluye típicamente al menos 3, y más generalmente, al menos 5 o de 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Los anticuerpos que reconocen el mismo epítopo pueden verificarse en un inmunoensayo simple que muestra la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, por ejemplo, un "ensayo de secuestro". Como se describe a continuación, la descripción no solo incluye los dominios de unión a antígeno enumerados y los anticuerpos en la presente memoria, sino también aquellos que compiten por la unión con los epítopos unidos por los dominios de unión a antígeno enumerados.
- Por tanto, la presente descripción proporciona diferentes dominios de anticuerpos. Como se describe en la presente memoria y se conoce en la técnica, los anticuerpos heterodiméricos de la descripción comprenden diferentes dominios dentro de las cadenas pesada y ligera, que también pueden solaparse. Estos dominios incluyen, pero no se limitan a, el dominio Fc, el dominio CH1, el dominio CH2, el dominio CH3, el dominio bisagra, el dominio constante pesado (CH1-bisagra-dominio Fc o CH1-bisagra-CH2-CH3), el dominio pesado variable, el dominio ligero variable, el dominio constante ligero, los dominios Fab y los dominios scFv.
- Por tanto, el "dominio Fc" incluye el dominio -CH2-CH3, y opcionalmente un dominio bisagra (-H-CH2-CH3). En las realizaciones en la presente memoria, cuando un scFv se une a un dominio Fc, es el extremo carboxiloterminal de la construcción scFv el que se une a toda o parte de la bisagra del dominio Fc; por ejemplo, generalmente se une a la secuencia EPKS que es el principio de la bisagra. La cadena pesada comprende un dominio pesado variable y un dominio constante, que incluye un dominio CH1-bisagra opcional-Fc que comprende un CH2-CH3. La cadena ligera comprende una cadena ligera variable y el dominio constante ligero. Un scFv comprende una cadena pesada variable, un enlazador scFv y un dominio ligero variable. En la mayoría de las construcciones y secuencias esbozadas en la presente memoria, el carboxiloterminal de la cadena pesada variable está unido al aminoterminal del enlazador scFv, cuyo carboxiloterminal está unido al aminoterminal de una cadena ligera variable (N-vh-enlazador-vl-C) aunque puede comutarse (N-vl-enlazador-vh-C).
- Algunas realizaciones de la descripción comprenden al menos un dominio scFv, que, aunque no se produce de forma natural, generalmente incluye un dominio pesado variable y un dominio ligero variable, unidos entre sí por un enlazador scFv. Como se describe en la presente memoria, mientras que el dominio scFv está generalmente orientado de aminoterminal a carboxiloterminal como vh-scFv enlazador-vl, esto puede invertirse para cualquiera de los dominios scFv (o los construidos usando secuencias vh y vl de Fab), a vl-scFv enlazador-vh, con enlazadores opcionales en uno o ambos extremos dependiendo del formato (véase generalmente la figura 1).
- Como se muestra en la presente memoria, hay una serie de enlazadores adecuados (para su uso como enlazadores de dominio o enlazadores de scFv) que se pueden utilizar para unir covalentemente los dominios recitados, incluidos los enlaces peptídicos tradicionales, generados por técnicas recombinantes. En algunos ejemplos, el péptido enlazador puede incluir predominantemente los siguientes residuos de aminoácidos: Gly, Ser, Ala o Thr. El péptido enlazador debe tener una longitud adecuada para unir dos moléculas de tal manera que asuman la conformación correcta entre sí para que conserven la actividad deseada. En una realización, el enlazador tiene una longitud de aproximadamente 1 a 50 aminoácidos, preferiblemente una longitud de aproximadamente 1 a 30 aminoácidos. En algunas realizaciones, pueden utilizarse enlazadores de 1 a 20 aminoácidos de longitud, y en algunos ejemplos, de 5 a 10 aminoácidos. Los enlazadores útiles incluyen polímeros de glicina-serina, entre los que se incluyen, por ejemplo, (GS)_n, (GSGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37756), (GGGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37757) y (GGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37758), donde n es un número entero de al menos uno (y generalmente de 3 a 4), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina y otros enlazadores flexibles. Alternativamente, una variedad de polímeros no proteicos, que incluyen pero no se limitan a polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioxialquileno o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, pueden ser utilizados como enlazadores.
- Otras secuencias enlazadoras pueden incluir cualquier secuencia de cualquier longitud del dominio CL/CH1 pero no todos los residuos del dominio CL/CH1; por ejemplo, los primeros 5-12 residuos de aminoácidos de los dominios CL/CH1. Los enlazadores pueden derivarse de la cadena ligera de inmunoglobulina, por ejemplo C κ o C λ . Los enlazadores pueden derivarse de cadenas pesadas de inmunoglobulina de cualquier isotipo, que incluye, por ejemplo, Cy1, Cy2, Cy3, Cy4, Ca1, Ca2, C δ , C ϵ y C μ . Las secuencias enlazadoras también pueden derivarse de otras proteínas tales como las proteínas similares a Ig (por ejemplo, TCR, FcR, KIR), secuencias derivadas de la región bisagra y otras secuencias naturales de otras proteínas.
- En algunos ejemplos, el enlazador es un "enlazador de dominio", utilizado para enlazar dos dominios cualesquiera, tal como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, en la figura 1F, puede haber un enlazador de dominio que une el carboxiloterminal del dominio CH1 del Fab al aminoterminal del scFv, con otro enlazador de dominio opcional que une el carboxiloterminal del scFv al dominio CH2 (aunque en muchas realizaciones se utiliza la bisagra como este enlazador de dominio). Aunque puede utilizarse cualquier enlazador adecuado, muchos ejemplos utilizan un polímero de glicina-serina como enlazador del dominio, incluyendo por ejemplo (GS)_n, (GSGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37756), (GGGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37757), y (GGGS)_n (Id. de sec. n.º: 37758), donde n es un número entero de al menos uno (y generalmente de 3 a 4 a 5), así como cualquier secuencia peptídica que permita la unión recombinante de los dos dominios con longitud y flexibilidad suficientes para permitir que cada dominio conserve su función biológica. En

algunos casos, y prestando atención a la “capacidad de concatenación”, como se describe a continuación, pueden usarse enlazadores de dominio cargados, como se usan en algunas realizaciones de enlazadores de scFv.

En algunas realizaciones, el enlazador es un enlazador scFv, utilizado para unir covalentemente los dominios vh y vl como se discute en la presente memoria. En muchos casos, el enlazador scFv es un enlazador scFv cargado, algunos de los cuales se muestran en la

Figura 7. Por consiguiente, la presente descripción proporciona además enlazadores scFv cargados, para facilitar la separación en pl entre un primer y un segundo monómero. Es decir, al incorporar un enlazador de scFv cargado, ya sea positivo o negativo (o ambos, en el caso de andamios que usan scFv en diferentes monómeros), esto permite que el monómero que comprende el enlazador cargado altere el pl sin realizar más cambios en los dominios Fc. Estos enlazadores cargados pueden sustituirse en cualquier scFv que contenga enlazadores estándar. De nuevo, como apreciarán los expertos en la técnica, los enlazadores de scFv cargados se usan en la “hebra” o monómero correcto, según los cambios deseados en el pl. Por ejemplo, como se analiza en la presente memoria, para hacer un anticuerpo heterodimérico de formato de triple F, se calcula el pl original de la región Fv para cada uno de los dominios de unión a antígeno deseados, y se elige uno para hacer un scFv, y en dependencia del pl, se eligen los enlazadores positivos o negativos.

Los enlazadores de dominio cargado también pueden utilizarse para aumentar la separación de pl de los monómeros de la descripción, y así los incluidos en

la figura 7 puede utilizarse en cualquier realización de la presente memoria en la que se utilice un enlazador.

En particular, los formatos representados en la figura 1 son anticuerpos, normalmente denominados “anticuerpos heterodiméricos”, lo que significa que la proteína tiene al menos dos secuencias Fc asociadas autoensambladas en un dominio Fc heterodimérico y al menos dos regiones Fv, ya sea como Fab o como scFv.

F. Anticuerpos químicos y humanizados

En ciertos ejemplos, los anticuerpos de la descripción comprenden una región variable de cadena pesada de un gen particular de inmunoglobulina de cadena pesada de línea germinal y/o una región variable de cadena ligera de un gen particular de inmunoglobulina de cadena ligera de línea germinal. Por ejemplo, dichos anticuerpos pueden comprender o consistir en un anticuerpo humano que comprenda regiones variables de cadena pesada o ligera que sean “producto de” o “derivadas de” una secuencia particular de línea germinal. Un anticuerpo humano que es “producto de” o “derivado de” una secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana puede identificarse como tal comparando la secuencia de aminoácidos del anticuerpo humano con las secuencias de aminoácidos de las inmunoglobulinas de la línea germinal humana y seleccionando la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana más cercana en secuencia (es decir, con el mayor % de identidad) a la secuencia del anticuerpo humano (utilizando los métodos descritos en la presente memoria). Un anticuerpo humano que es “el producto de” o “derivado de” una secuencia particular de inmunoglobulina de línea germinal humana puede contener diferencias de aminoácidos en comparación con la secuencia de línea germinal, debido, por ejemplo, a mutaciones somáticas de origen natural o a la introducción intencionada de una mutación dirigida al sitio. Sin embargo, un anticuerpo humanizado suele ser al menos un 90 % idéntico en secuencia de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos codificada por un gen de inmunoglobulina de línea germinal humana y contiene residuos de aminoácidos que identifican al anticuerpo como derivado de secuencias humanas cuando se compara con las secuencias de aminoácidos de inmunoglobulina de línea germinal de otras especies (p. ej., secuencias de línea germinal murina). En ciertos casos, un anticuerpo humanizado puede ser al menos 95, 96, 97, 98 o 99 %, o incluso al menos 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntico en secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos codificada por el gen de inmunoglobulina de la línea germinal. Típicamente, un anticuerpo humanizado derivado de una secuencia particular de línea germinal humana mostrará no más de 10-20 diferencias de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos codificada por el gen de inmunoglobulina de línea germinal humana (antes de la introducción de cualquier variante de sesgo, pl y supresión en la presente memoria; es decir, el número de variantes es generalmente bajo, antes de la introducción de las variantes de la invención). En ciertos casos, el anticuerpo humanizado puede mostrar no más de 5, o incluso no más de 4, 3, 2, o 1 aminoácido de diferencia de la secuencia de aminoácidos codificada por el gen de inmunoglobulina de línea germinal (de nuevo, antes de la introducción de cualquier variante de sesgo, pl y supresión en la presente memoria; es decir, el número de variantes es generalmente bajo, antes de la introducción de las variantes de la descripción).

En un ejemplo, se ha madurado la afinidad del anticuerpo original, como es conocido en la técnica. Pueden emplearse métodos basados en la estructura para la humanización y la maduración de la afinidad, por ejemplo como se describe en el documento USSN 11/004.590. Pueden emplearse métodos basados en selección para humanizar y/o madurar la afinidad de regiones variables de anticuerpos, que incluyen, pero sin limitarse a, los métodos descritos en Wu y otros, 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca y col., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok y col., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618; Rader y col., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915; Krauss y col., 2003, Protein Engineering 16(10): 753-759. Otros métodos de humanización pueden implicar el injerto de solo partes de las

CDR, incluidos, entre otros, los métodos descritos en el documento US 2001-0035606A1, Tan y col., 2002, J Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis y col., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084.

IV. Anticuerpos heterodiméricos

- 5 Por consiguiente, en algunas realizaciones la presente descripción proporciona anticuerpos heterodiméricos contra puntos de control que se basan en el uso de dos secuencias Fc variantes de cadena pesada diferentes, que se autoensamblarán para formar dominios Fc heterodiméricos y anticuerpos heterodiméricos.
- 10 La presente descripción se dirige a construcciones novedosas para proporcionar anticuerpos heterodiméricos que permiten la unión a más de un antígeno o ligando de punto de control, p. ej. para permitir la unión biespecífica. Las construcciones de anticuerpos heterodiméricos se basan en la naturaleza de autoensamblaje de los dos dominios Fc de las cadenas pesadas de los anticuerpos, por ejemplo, dos "monómeros" que se ensamblan en un "dímero". Los anticuerpos heterodiméricos se preparan por alteración de la secuencia de aminoácidos de cada monómero, como se analiza más completamente a continuación. Por tanto, la presente descripción se dirige en general a la creación de anticuerpos heterodiméricos contra puntos de control que pueden coacoplarse a antígenos de varias maneras, basándose en variantes de aminoácidos en las regiones constantes que son diferentes en cada cadena para promover la formación heterodimérica y/o permitir la facilidad de purificación de los heterodímeros sobre los homodímeros.
- 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 Por tanto, la presente descripción proporciona anticuerpos biespecíficos. Un problema en curso en las tecnologías de anticuerpos es el deseo de anticuerpos "biespecíficos" que se unan a dos antígenos diferentes simultáneamente, lo que permite en general que los diferentes antígenos se acerquen y produzcan nuevas funcionalidades y nuevas terapias. En general, estos anticuerpos se fabrican mediante la inclusión de genes para cada cadena ligera y pesada en las células hospederas. Esto generalmente da como resultado la formación del heterodímero (A-B) deseado, así como los dos homodímeros (A-A y B-B (sin incluir los aspectos heterodiméricos de cadena ligera)). Sin embargo, un obstáculo principal en la formación de anticuerpos biespecíficos es la dificultad de purificar los anticuerpos heterodiméricos aparte de los anticuerpos homodiméricos y/o sesgar la formación del heterodímero sobre la formación de los homodímeros.
- Hay varios mecanismos que pueden usarse para generar los heterodímeros de la presente invención. Además, como apreciarán los expertos en la técnica, estos mecanismos pueden combinarse para asegurar una alta heterodimerización. Por tanto, las variantes de aminoácidos que conducen a la producción de heterodímeros se denominan "variantes de heterodimerización". Como se analiza a continuación, las variantes de heterodimerización pueden incluir variantes estéricas (por ejemplo, las variantes de "botones y ojales" o "de sesgo" descritas a continuación y las variantes de "pares de carga" descritas a continuación), así como las "variantes de pl", las cuales permiten la purificación de homodímeros lejos de los heterodímeros. Como se describe en general en el documento WO2014/145806, y específicamente como se indica a continuación para la discusión de las "variantes de heterodimerización", entre los mecanismos útiles para la heterodimerización se incluyen los "botones y ojales" ("KIH"; a veces en la presente memoria como variantes "sesgadas" (véase la discusión en el documento WO2014/145806), "dirección electrostática" o "pares de carga" como se describe en el documento WO2014/145806, variantes de pl como se describe en el documento WO2014/145806, y variantes Fc generales adicionales como se describe en el documento WO2014/145806 y a continuación).
- En la presente descripción, existen varios mecanismos básicos que pueden facilitar la purificación de anticuerpos heterodiméricos; uno se basa en el uso de variantes de pl, de forma que cada monómero tiene un pl diferente, permitiendo así la purificación isoeléctrica de proteínas diméricas A-A, A-B y B-B. Alternativamente, algunos formatos de andamios, como el formato de "triple F", también permiten la separación en función del tamaño. Como se describe con más detalle a continuación, también es posible "sesgar" la formación de los heterodímeros con respecto a los homodímeros. Por lo tanto, una combinación de variantes de heterodimerización estérica y variantes de pl o par de carga encuentran un uso particular en la descripción.
- En general, las realizaciones de uso particular en la presente descripción se basan en conjuntos de variantes que incluyen variantes de sesgo, que fomentan la formación de heterodimerización frente a la formación de homodimerización, junto con variantes de pl, que aumentan la diferencia de pl entre los dos monómeros para facilitar la purificación de los heterodímeros lejos de los homodímeros.
- Además, como se describe más completamente a continuación, en dependencia del formato del anticuerpo heterodímero, las variantes de pl pueden estar contenidas dentro de los dominios constante y/o Fc de un monómero, o pueden usarse enlazadores cargados, ya sean enlazadores de dominio o enlazadores de scFv. Es decir, los andamios que utilizan scFv(s) tales como el formato Triple F pueden incluir enlazadores de scFv cargados (positivos o negativos), que dan un impulso adicional de pl con fines de purificación. Como apreciarán los expertos en la técnica, algunos formatos Triple F son útiles con solo enlazadores de scFv cargados y sin ajustes de pl adicionales, aunque la descripción proporciona variantes de pl que están en uno o ambos monómeros, y/o también enlazadores de dominio cargados. Además, la modificación de aminoácidos adicionales para funcionalidades alternativas también puede conferir cambios de pl, tales como variantes de Fc, FcRh y KO.

En la presente descripción que utiliza el pl como mecanismo de separación para permitir la purificación de proteínas heterodímericas, pueden introducirse variantes de aminoácidos en uno o ambos polipéptidos monoméricos; es decir, el pl de uno de los monómeros (denominado en la presente memoria “monómero A” para simplificar) puede modificarse para alejarlo del monómero B, o pueden modificarse tanto el monómero A como el B, aumentando el pl del monómero A y disminuyendo el pl del monómero B. Como se ha comentado, los cambios de pl de uno o ambos monómeros pueden realizarse eliminando o añadiendo un residuo cargado (por ejemplo, un aminoácido neutro se sustituye por un residuo de aminoácido cargado positiva o negativamente, por ejemplo, glicina por ácido glutámico), cambiando un residuo cargado de positivo o negativo a la carga opuesta (por ejemplo, ácido aspártico por lisina) o cambiando un residuo cargado por un residuo neutro (por ejemplo, pérdida de una carga; lisina a serina). Varias de estas variantes se muestran en las figuras.

Por consiguiente, este ejemplo de la presente descripción prevé la creación de un cambio suficiente en el pl de al menos uno de los monómeros, de manera que los heterodímeros puedan separarse de los homodímeros. Como apreciarán los expertos en la técnica, y como se analiza a continuación, esto puede realizarse mediante el uso de una región constante de cadena pesada de “tipo salvaje” y una región variante modificada para aumentar o disminuir su pl (wt A- +B o wt A - -B), o al aumentar una región y disminuir la otra región (A + -B- o A- B+).

Por tanto, en general, un componente de algunos ejemplos de la presente descripción son las variantes de aminoácidos en las regiones constantes de los anticuerpos dirigidas a alterar el punto isoeléctrico (pl) de al menos uno, si no ambos, de los monómeros de una proteína dimérica para formar “anticuerpos pl” mediante la incorporación de sustituciones de aminoácidos (“variantes de pl” o “sustituciones pl”) en uno o ambos de los monómeros. Como se muestra en la presente memoria, la separación de los heterodímeros de los dos homodímeros puede lograrse si los pl de los dos monómeros difieren en tan solo 0,1 unidades de pH, con 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 o más, todos usados en la presente descripción.

Como apreciarán los expertos en la técnica, el número de variantes de pl que se incluirán en cada uno o ambos monómeros para obtener una buena separación dependerá en parte del pl inicial de los componentes, por ejemplo en el formato triple F, el pl inicial del scFv y Fab de interés. Es decir, para determinar qué monómero modificar o en qué “dirección” (por ejemplo, más positiva o más negativa), se calculan las secuencias Fv de los dos antígenos diana y se toma una decisión a partir de ahí. Como se conoce en la técnica, los diferentes Fv tendrán diferentes pl de partida, los cuales se explotan en la presente descripción. En general, como se describe en la presente memoria, los pl se modifican para dar como resultado una diferencia de pl total de cada monómero de al menos aproximadamente 0,1 logaritmos, y de preferencia de 0,2 a 0,5 como se describe en la presente memoria.

Además, como apreciarán los expertos en la técnica y se describe en la presente memoria, en algunos ejemplos, los heterodímeros pueden separarse de los homodímeros en función del tamaño. Como se muestra en la figura 1, por ejemplo, varios de los formatos permiten la separación de heterodímeros y homodímeros en función del tamaño.

A. Variantes de heterodimerización

La presente descripción proporciona las proteínas heterodímericas, que incluyen los anticuerpos heterodiméricos en una variedad de formatos, los cuales utilizan las variantes las heterodímeras para permitir la formación y/o purificación heterodimérica lejos de los homodímeros.

Hay varios pares adecuados de conjuntos de variantes de sesgo de heterodimerización. Estas variantes vienen en “pares” de “conjuntos”. Es decir, un conjunto del par se incorpora al primer monómero y el otro conjunto del par se incorpora al segundo monómero. Cabe señalar que estos conjuntos no se comportan necesariamente como variantes de “botones y ojales”, con una correspondencia uno a uno entre un residuo de un monómero y un residuo del otro; es decir, estos pares de conjuntos forman una interfaz entre los dos monómeros que favorece la formación de heterodímeros y desalienta la de homodímeros, lo que permite que el porcentaje de heterodímeros que se forman espontáneamente en condiciones biológicas sea superior al 90 %, en lugar del 50 % esperado (25 % homodímero A/A:50 % heterodímero A/B:25 % homodímero B/B).

B. Variantes estéricas

En algunos ejemplos, la formación de heterodímeros puede facilitarse mediante la adición de variantes estéricas. Es decir, al cambiar los aminoácidos en cada cadena pesada, es más probable que diferentes cadenas pesadas se asocien para formar la estructura heterodimérica que para formar homodímeros con las mismas secuencias de aminoácidos del Fc. En las figuras se incluyen variantes estéricas adecuadas.

Un mecanismo generalmente conocido en la técnica como “botones y ojales”, que se refiere a la ingeniería de aminoácidos que crea influencias estéricas para favorecer la formación heterodimérica y desfavorecer la formación homodimérica, también puede utilizarse opcionalmente; Esto se denomina a veces “botones y ojales”, como se describe en Ridgway y col., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell y col., J. Mol. Biol. 1997 270:26; Patente estadounidense n.º 8.216.805. Las figuras identifican una serie de pares de “monómero A - monómero B” que se basan en los “botones y ojales”. Además, como se describe en Merchant y col, Nature Biotech. 16:677 (1998), estas

mutaciones de “botones y ojales” pueden combinarse con enlaces disulfuro para sesgar la formación hacia la heterodimerización.

Un mecanismo adicional útil en la generación de heterodímeros a veces se denomina “orientación electrostática”, como se describe en Gunasekaran y col, J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010). Esto a veces se denomina en la presente memoria “pares de carga”. En este ejemplo, la electrostática se utiliza para sesgar la formación hacia la heterodimerización. Como apreciarán los expertos en la técnica, estos también pueden tener un efecto sobre el pl y, por lo tanto, sobre la purificación y, por lo tanto, en algunos casos también podrían considerarse variantes de pl. Sin embargo, como estos se generaron para forzar la heterodimerización y no se utilizaron como herramientas de purificación, se clasifican como “variantes estéricas”. Estos incluyen, entre otras, las modificaciones D221E/P228E/L368E emparejadas con D221R/P228R/K409R (por ejemplo, estos son “conjuntos correspondientes de monómeros) y C220E/P228E/368E emparejadas con C220R/E224R/P228R/K409R.

Variantes adicionales de monómero A y monómero B que pueden combinarse con otras variantes, opcional e independientemente en cualquier cantidad, como las variantes de pl descritas en la presente memoria u otras variantes estéricas que se muestran en la figura 37 del documento US 2012/0149876.

En algunos ejemplos, las variantes estéricas descritas en la presente memoria pueden incorporarse opcional e independientemente con cualquier variante de pl (u otras variantes tales como las variantes de Fc, las variantes de FcRn, etc.) en uno o ambos monómeros, y pueden incluirse o excluirse de forma independiente y opcional de las proteínas de la invención.

En la figura 3 y en la figura 8 se muestra una lista de variantes de sesgo adecuadas que muestran algunos pares de especial utilidad en muchos ejemplos. De especial utilidad son los pares de conjuntos que incluyen, entre otros, S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q y T366S/L368A/Y407V: T366W (incluyendo opcionalmente un puente disulfuro, T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C). En términos de nomenclatura, el par “S364K/E357Q: L368D/K370S” significa que uno de los monómeros tiene el conjunto de variante doble S364K/E357Q y el otro tiene el conjunto de variante doble L368D/K370S; como en el caso anterior, el “trenzado” de estos pares depende del pl de partida.

C. Variantes de pl (punto isoeléctrico) para heterodímeros

En general, como apreciarán los expertos en la técnica, existen dos categorías generales de las variantes de pl: las que aumentan el pl de la proteína (cambios básicos) y las que disminuyen el pl de la proteína (cambios ácidos). Como se describe en la presente memoria, pueden realizarse todas las combinaciones de estas variantes: un monómero puede ser de tipo salvaje, o una variante que no muestra un pl significativamente diferente del de tipo salvaje, y el otro puede ser más básico o más ácido. Alternativamente, cada monómero se cambia, de uno a más básico y de uno a más ácido.

Las combinaciones preferidas de variantes de pl se muestran en la figura 4. Como se describe en la presente memoria y se muestra en las figuras, estos cambios se muestran con respecto a la IgG1, pero todos los isotipos pueden alterarse de esta manera, así como los híbridos de los isotipos. En el caso de que el dominio constante de la cadena pesada sea de IgG2-4, también pueden usarse R133E y R133Q.

En un caso, por ejemplo, en los formatos de la figura 1A, E, F, G, H e I, una combinación preferida de variantes de pl tiene un monómero (el lado Fab negativo) que comprende variantes 208D/295E/384D/418E/421D (N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D en relación con IgG1 humana) y un segundo monómero (el lado scFv positivo) que comprende un enlazador scFv cargado positivamente, incluyendo (GKPGS)₄ (Id. de sec. n.º: 37755). Sin embargo, como apreciarán los expertos en la materia, el primer monómero incluye un dominio CH1, incluida la posición 208. Por consiguiente, en las construcciones que no incluyen un dominio CH1 (por ejemplo, para anticuerpos que no utilizan un dominio CH1 en uno de los dominios, por ejemplo en un formato scFv dual o un formato de “un brazo” como los representados en la figura 1B, C o D), un conjunto de variantes Fc de pl negativo preferido incluye variantes 295E/384D/418E/421D (Q295E/N384D/Q418E/N421D cuando se relacionan con IgG1 humana).

Por consiguiente, en algunos casos, un monómero tiene un conjunto de sustituciones de la figura 4 y el otro monómero tiene un enlazador cargado (ya sea en forma de enlazador scFv cargado porque ese monómero comprende un scFv o un enlazador de dominio cargado, según dicte el formato, que puede seleccionarse entre los representados en la figura 7).

1. Variantes isotípicas

Además, muchos casos de la descripción se basan en la “importación” de aminoácidos de pl en posiciones particulares de un isótipo de IgG a otro, lo cual reduce o elimina la posibilidad de que se introduzca inmunogenicidad no deseada en las variantes. Varios de estos se muestran en la figura 21 de la publicación de EE. UU. 2014/0370013.

Es decir, la IgG1 es un isotipo común para los anticuerpos terapéuticos por una variedad de razones, que incluye una función efectora alta. Sin embargo, la región constante pesada de la IgG1 tiene un pl más alto que el de IgG2 (8,10 frente a 7,31). Al introducir residuos de IgG2 en posiciones particulares en el esqueleto de la IgG1, el pl del monómero resultante disminuye (o aumenta) y, además, exhibe una vida media en suero más prolongada. Por ejemplo, la IgG1 tiene una glicina (pl 5,97) en la posición 137, y la IgG2 tiene un ácido glutámico (pl 3,22); importar el ácido glutámico afectará al pl de la proteína resultante. Como se describe a continuación, generalmente se requieren varias sustituciones de aminoácidos para afectar significativamente el pl del anticuerpo variante. Sin embargo, cabe señalar que, como se analiza a continuación, que incluso los cambios en las moléculas de IgG2 permiten un aumento de la vida media en suero.

En otros casos, se realizan cambios de aminoácidos no isotípicos, ya sea para reducir el estado de carga general de la proteína resultante (por ejemplo, al cambiar un aminoácido de pl más alto por un aminoácido de pl más bajo), o para permitir adaptaciones en la estructura para la estabilidad, etc., como se describe con más detalle a continuación.

Además, mediante la modificación de pl tanto de los dominios constantes pesados como ligeros, pueden verse cambios significativos en cada monómero del heterodímero. Como se analiza en la presente memoria, el hecho de que los pl de los dos monómeros difieran en al menos 0,5 puede permitir la separación mediante una cromatografía de intercambio iónico o enfoque isoeléctrico u otros métodos sensibles al punto isoeléctrico.

20 D. Cálculo del pl

El pl de cada monómero puede depender del pl del dominio constante de la cadena pesada variante y del pl del monómero total, que incluye el dominio constante de la cadena pesada variante y la pareja de fusión. Por tanto, en algunos ejemplos, el cambio en el pl se calcula sobre la base de la variante del dominio constante de la cadena pesada, utilizando el gráfico de la figura 19 de la US Pub. 2014/0370013. Como se analiza en la presente memoria, se decide generalmente cual monómero modificar por el pl inherente de las regiones Fv y del andamio. Alternativamente, puede compararse el pl de cada monómero.

30 E. Variantes de pl que también confieren una mejor unión *in vivo* al FcRn

En el caso donde la variante de pl disminuye el pl del monómero, este pueden tener el beneficio adicional de mejorar la retención en el suero *in vivo*.

Aunque todavía se encuentran en estudio, se cree que las regiones Fc tienen vidas medias más largas *in vivo*, porque la unión al FcRn a pH 6 en un endosoma secuestra el Fc (Ghetie y Ward, 1997 Immunol Today. 18(12): 592-598). El compartimento endosómico luego recicla el Fc a la superficie celular. Una vez que el compartimento se abre al espacio extracelular, el pH más alto, ~ 7,4, induce la liberación del Fc de regreso a la sangre. En ratones, Dall' Acqua y col. demostraron que los mutantes de Fc con una mayor unión al FcRn a pH 6 y pH 7,4 en realidad tenían concentraciones séricas reducidas y la misma vida media que el Fc de tipo salvaje (Dall' Acqua y col. 2002, J. Immunol. 166:5171-5180). Se cree que la mayor afinidad del Fc por el FcRn a pH 7,4 prohíbe la liberación del Fc de vuelta a la sangre. Por lo tanto, las mutaciones del Fc que aumentarán la vida media del Fc *in vivo* aumentarán idealmente la unión al FcRn a un pH más bajo mientras aún permiten la liberación del Fc a un pH más alto. El aminoácido histidina cambia su estado de carga en el intervalo de pH de 6,0 a 7,4. Por lo tanto, no es sorprendente encontrar residuos de His en posiciones importantes en el complejo Fc/FcRn.

Recientemente se sugirió que los anticuerpos con regiones variables que tienen puntos isoeléctricos más bajos también pueden tener vidas medias en suero más largas (Igawa y otros, 2010 PEDS. 23(5): 385-392). Sin embargo, el mecanismo de esto aún no se conoce bien. Además, las regiones variables difieren de un anticuerpo a otro. Las variantes de la región constante con un pl reducido y una vida media extendida proporcionarían un enfoque más modular para mejorar las propiedades farmacocinéticas de los anticuerpos, como se describe en la presente memoria.

50 F. Variantes adicionales de Fc para funcionalidad adicional

Además de las variantes de aminoácidos de pl, hay una serie de modificaciones útiles de aminoácidos de Fc que pueden realizarse por una variedad de razones, que incluyen, pero sin limitarse a, la alteración de la unión a uno o más receptores FcγR, la unión alterada a los receptores FcRn, etc.

Por consiguiente, las proteínas de la descripción pueden incluir modificaciones de aminoácidos, incluidas las variantes de heterodimerización descritas en la presente memoria, que incluyen las variantes de pl y las variantes estéricas. Cada conjunto de variantes puede incluirse o excluirse independiente y opcionalmente de cualquier proteína heterodimérica particular.

65 G. Variantes de FcγR

Por consiguiente, hay varias sustituciones de Fc útiles que pueden realizarse para alterar la unión a uno o más de los receptores FcγR. Pueden ser útiles las sustituciones que dan como resultado un aumento de la unión así como una

disminución de la unión. Por ejemplo, se sabe que el aumento de la unión a Fc γ RIIIa produce un aumento de la ADCC (citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos); la reacción mediada por células en donde las células citotóxicas inespecíficas que expresan Fc γ R reconocen el anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente causan la lisis de la célula diana). De manera similar, la disminución de la unión a Fc γ RIIb (un receptor inhibidor) 5 también puede ser beneficiosa en algunas circunstancias. Las sustituciones de aminoácidos que se utilizan en la presente descripción incluyen las enumeradas en los documentos US 2006-0024298 A1 (en particular la figura 41), US2006-0121032 A1, US2006-0235208 A1, y US 2007-0148170 A1 específicamente para las variantes descritas en ellos. Las variantes particulares que encuentran un uso incluyen, entre otras, 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 10 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 243A, 243L, 264A, 264V y 299T.

Además, hay sustituciones de Fc adicionales que se utilizan para aumentar la unión al receptor FcRn y aumentar la semivida sérica, como se describe específicamente en el documento US 2009-0163699 A1, que incluye, entre otras, 15 434S, 434A, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I o V/434S, 436V/428L y 259I/308F/428L.

H. Variantes de supresión

De manera similar, otra categoría de variantes funcionales son las variantes de “supresión de Fc γ R” o las variantes de “desactivación génica de Fc (FcKO o KO)”. En estos ejemplos, para algunas aplicaciones terapéuticas, es deseable 20 reducir o eliminar la unión normal del dominio Fc a uno o más o a todos los receptores Fc γ (p. ej. Fc γ R1, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, etc.) para evitar mecanismos de acción adicionales. Esto es, por ejemplo, en muchos casos, particularmente en el uso de anticuerpos biespecíficos de punto de control deseables para suprimir la unión a Fc γ RIIIa 25 para eliminar o reducir significativamente la actividad ADCC de tal manera que uno de los dominios Fc comprenda una o más variantes de supresión del receptor Fc γ . Estas variantes de supresión se representan en la figura 5, y cada una puede incluirse o excluirse independiente y opcionalmente, con aspectos preferidos con el uso de variantes de supresión seleccionadas del grupo que consiste en G236R/L328R, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G y E233P/L234V/L235A/G236del. Cabe señalar que las variantes de supresión a las que se hace referencia en la presente memoria suprimen la unión a Fc γ R pero generalmente no la 30 unión a FcRn.

Como es conocido en la técnica, el dominio Fc de la IgG1 humana tiene la mayor unión a los receptores Fc γ , y por lo tanto se pueden utilizar variantes de supresión cuando el dominio constante (o dominio Fc) en el armazón del anticuerpo heterodimérico es IgG1. Como alternativa, o además de las variantes de supresión en un origen de IgG1, 35 las mutaciones en la posición de glicosilación 297 (generalmente a A o S) pueden anular significativamente la unión a Fc γ RIIIa, por ejemplo. Las IgG2 e IgG4 humanas tienen una unión natural reducida a los receptores Fc γ , por lo que esos armazones pueden utilizarse con o sin las variantes de supresión.

I. Combinación de variantes heterodiméricas y Fc

Como apreciarán los expertos en la técnica, todas las variantes de heterodimerización mencionadas (que incluyen las variantes de sesgo y/o pl) pueden combinarse opcional e independientemente de cualquier forma, siempre que conserven su “capacidad de concatenación” o “división en monómeros”. Además, todas estas variantes pueden combinarse en cualquiera de los formatos de heterodimerización.

En el caso de las variantes de pl, aunque las figuras muestran casos que encuentran un uso particular, pueden generarse otras combinaciones, al seguir la regla básica de alterar la diferencia de pl entre los dos monómeros para facilitar la purificación.

Además, cualquiera de las variantes de heterodimerización, sesgo y pl, también se combina independiente y opcionalmente con variantes de supresión de Fc, variantes de Fc, variantes de FcRn, como se describe generalmente en la presente memoria.

V. Formatos útiles de la descripción

Como apreciarán los expertos en la materia, y como se expone con más detalle a continuación, los anticuerpos heterodiméricos biespecíficos de la presente descripción pueden adoptar una amplia variedad de configuraciones, como se representa en general en la figura 1. Algunas figuras representan configuraciones de “un solo extremo”, donde hay un tipo de especificidad en un “brazo” de la molécula y una especificidad diferente en el otro “brazo”. Otras figuras representan configuraciones de “extremos dobles”, donde hay al menos un tipo de especificidad en la “parte superior” de la molécula y una o más especificidades diferentes en la “parte inferior” de la molécula. Por tanto, la presente descripción se refiere a nuevas composiciones de inmunoglobulina que actúan conjuntamente sobre un primer y un segundo antígeno diferentes.

Como apreciarán los expertos en la materia, los formatos heterodiméricos de la descripción pueden tener diferentes valencias, así como ser biespecíficos. Es decir, los anticuerpos heterodiméricos de la invención pueden ser bivalentes

y biespecíficos, en donde una diana de punto de control está unida por un ABD y la otra diana de punto de control está unida por un segundo ABD. Los anticuerpos heterodiméricos también pueden ser trivalentes y biespecíficos, en donde el primer antígeno está unido por dos ABD y el segundo antígeno por un segundo ABD.

5 A. Formato abrebotellas

Un armazón heterodimérico que se utiliza especialmente en la presente invención es el formato de andamio “triple F” o “abrebottellas” que se muestra en la figura 1A. En esta realización, una cadena pesada del anticuerpo contiene un Fv de cadena única (“scFv”, como se define a continuación) y la otra cadena pesada es un formato de Fab “regular”, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera variables. Esta estructura a veces se denomina en la presente memoria formato “triple F” (scFv-Fab-Fc) o formato “abrebottellas”, debido a su similitud visual con un abrebotellas (véase la figura 1A). Las dos cadenas se aproximan mediante el uso de variantes de aminoácidos en las regiones constantes (por ejemplo, el dominio Fc, el dominio CH1 y/o la región bisagra) que promueven la formación de anticuerpos heterodiméricos como se describe más completamente a continuación.

10 Hay varias ventajas distintas en el actual formato de “triple F”. Como se conoce en la técnica, los análogos de anticuerpos que se basan en dos construcciones scFv a menudo tienen problemas de estabilidad y agregación, que pueden aliviarse en la presente invención mediante la adición de un apareamiento “regular” de cadenas pesadas y ligeras. Además, a diferencia de los formatos que se basan en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, no hay problema con el apareamiento incorrecto de cadenas pesadas y ligeras (por ejemplo, apareamiento de la pesada 1 con la ligera 2, etc.).

15 Los ejemplos esbozados en la presente memoria se basan en general en el formato de abrebotellas que comprende un primer monómero que comprende un scFv, que comprende un dominio variable pesado y un dominio variable ligero, unido covalentemente utilizando un enlazador de scFv (cargado, en muchos casos, pero no en todos), donde el scFv está unido covalentemente al aminoterminal de un primer dominio Fc normalmente a través de un enlazador de dominio (que, como se esboza en la presente memoria puede ser no cargado o cargado y puede ser exógeno o endógeno (p. ej. todo o parte del dominio bisagra nativo). El segundo monómero del formato de abrebotellas es una cadena pesada y la composición comprende además una cadena ligera.

20 30 Además, los dominios Fc del formato abrebotellas comprenden variantes de sesgo (p. ej., un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo las variantes de sesgo particularmente útiles S364K/E357Q; L368D/K370S;), variantes de supresión optionales (incluidas las mostradas en la figura 5), enlazadores scFv opcionalmente cargados (incluidos los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).

25 35 40 45 50 55 El formato abrebotellas incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un receptor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo receptor de punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. En este ejemplo particular, los pares de Fv monoméricos adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y TIGIT, TIGIT y BTLA. En esta realización particular, un abrebotellas con estas variantes tiene el lado scFv que comprende el ABD 1G6_L1.194_H1.279 que se une a PD-1 encuentra un uso particular. En esta realización particular, un abrebotellas con estas variantes tiene el lado scFv que comprende el ABD [CTLA-4]_H3.23_L0.129 que se une a CTLA-4 encuentra un uso particular.

60 65 Son particularmente útiles en algunos ejemplos, particularmente en el formato abrebotellas, CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, TIM-3 X PD-1 y LAG-3 X CTLA-4.

65 Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

70 75 80 85 90 En algunos ejemplos, el formato abrebotellas incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunas realizaciones incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero de scFv”) que comprende un enlazador de scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende

las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. En este ejemplo particular, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados primero, scFv segundo) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 X CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 X TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA. En esta realización particular, un abrebotellas con estas variantes tiene el lado scFv que comprende el ABD 1G6_L1.194_H1.279 que se une a PD-1 encuentra un uso particular. En esta realización particular, un abrebotellas con estas variantes tiene el lado scFv que comprende el [CTLA-4]_H3.23_L0. 129 ABD que se une a CTLA-4 encuentra un uso particular.

Son particularmente útiles en algunos ejemplos, particularmente en el formato abrebotellas, CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, TIM-3 X PD-1 y LAG-3 X CTLA-4.

Específicamente, la figura 37 muestra algunas secuencias “armazón” de abrebotellas a las que les faltan las secuencias de Fv que pueden utilizarse en la presente invención. Es decir, pueden utilizarse secuencias de Fv para la porción scFv y la porción Fab de cualquier combinación de PD-1 y CTLA-4, PD-1 y TIM-3, PD-1 y LAG-3, PD-1 y TIGIT, PD-1 y BTLA, CTLA-4 y TIM-3, CTLA-4 y LAG-3, CTLA-4 y TIGIT, CTLA-4 y BTLA, TIM-3 y LAG-3, TIM-3 y TIGIT, TIM-3 y BTLA, LAG-3 y TIGIT, LAG-3 y BTLA y TIGIT y BTLA. Las secuencias pueden ser cualquiera de las descritas en la presente memoria en el listado de secuencias y/o en las figuras 9 a 13.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37, las combinaciones de Fv específicas de uso en la presente invención incluyen PD-1 y CTLA-4, PD-1 y TIM-3, PD-1 y LAG-3, PD-1 y TIGIT, PD-1 y BTLA, CTLA-4 y TIM-3, CTLA-4 y LAG-3, CTLA-4 y TIGIT, CTLA-4 y BTLA, TIM-3 y LAG-3, TIM-3 y TIGIT, TIM-3 y BTLA, LAG-3 y TIGIT, LAG-3 y BTLA y TIGIT y BTLA. Las secuencias pueden ser cualquiera de las descritas en la presente memoria en el listado de secuencias y/o en las figuras 9 a 13.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37, las combinaciones de Fv específicas de uso en la presente descripción incluyen CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv), PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv), LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv), BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) y LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv).

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (que incluye opcionalmente las variantes 428L/434S), los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (incluyendo opcionalmente las variantes 428L/434S), los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, entre otros, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (incluyendo opcionalmente las variantes 428L/434S), los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, pero sin limitación, 2A11_H0L0; ; 2A11_H1.125_L2.113; 2A_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (incluyendo opcionalmente las variantes 428L/434S), los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738.

Para el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (incluyendo opcionalmente las variantes 428L/434S), los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, pero sin limitación, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706.

- 5 A continuación se exponen ejemplos concretos de abrebotellas.
- B. Formato mAb-Fv
- 10 Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato mAb-Fv mostrado en la figura 1H. En este caso, el formato se basa en el uso de una unión carboxiloterminal de un dominio pesado variable “adicional” a un monómero y la unión carboxiloterminal de un dominio ligero variable “adicional” al otro monómero, formando así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde las porciones Fab de los dos monómeros se unen a una diana de punto de control y el dominio scFv “adicional” se une a una diana de punto de control diferente.
- 15 En este caso, el primer monómero comprende una primera cadena pesada, que comprende un primer dominio pesado variable y un primer dominio pesado constante que comprende un primer dominio Fc, con un primer dominio ligero variable unido covalentemente al carboxiloterminal del primer dominio Fc utilizando un enlazador de dominio (vh1-CH1-bisagra-CH2-CH3-[enlazador opcional]-vl2). El segundo monómero comprende un segundo dominio pesado variable del segundo dominio pesado constante que comprende un segundo dominio Fc, y un tercer dominio pesado variable unido covalentemente al carboxiloterminal del segundo dominio Fc utilizando un enlazador de dominio (vh1-CH1-bisagra-CH2-CH3-[enlazador opcional]-vh2). Los dos dominios variables unidos por el extremo carboxiloterminal constituyen un scFv. Este caso utiliza además una cadena ligera común que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con las cadenas pesadas para formar dos Fab idénticas. Como en muchas de las realizaciones de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En este caso, los pares Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.
- 20 Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.
- 25 35 Además, los dominios Fc del formato mAb-Fv comprenden variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S; S364K; L368E/K370S; S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V; T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).
- 30 40 En algunos casos, el formato mAb-Fv incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En algunas realizaciones en este formato, son de uso particular (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.
- 45 55 En algunos casos, el formato mAb-Fv incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada
- 60 65

forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En algunas realizaciones en este formato, son de uso particular (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

- 5 Para secuencias mAb-Fv que son similares al armazón 1 mAb-scFv (opcionalmente incluyendo M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.
- 10 Para las secuencias mAb-Fv que son similares al armazón 1 mAb-scFv (opcionalmente incluyendo M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, pero no se limitan a, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416.
- 15 Para las secuencias mAb-Fv que son similares al armazón 1 mAb-scFv (opcionalmente incluyendo M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 30 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002.
- 20 Para secuencias mAb-Fv que son similares al armazón 1 mAb-scFv (incluyendo opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738.
- 25 Para las secuencias mAb-Fv que son similares al armazón 1 mAb-scFv (opcionalmente incluyendo M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706.
- 30 C. mAb-scFv
- 35 Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato mAb-scFv mostrado en la figura 11. En este caso, el formato se basa en el uso de una unión carboxiloterminal de un scFv a uno de los monómeros, formando así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde las porciones Fab de los dos monómeros se unen a una diana de punto de control y el dominio scFv “adicional” se une a una diana de punto de control diferente.
- 40 En este caso, el primer monómero comprende una primera cadena pesada (que comprende un dominio pesado variable y un dominio constante), con un scFv unido covalentemente carboxiloterminalmente que comprende un dominio ligero variable scFv, un enlazador scFv y un dominio pesado variable scFv en cualquier orientación (vh1-CH1-bisagra-CH2-CH3-[enlazador opcional]-vh2-scFv enlazador-vl2 o vh1-CH1-bisagra-CH2-CH3-[enlazador opcional]-vl2-scFv enlazador-vh2). Esta realización utiliza además una cadena ligera común que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con las cadenas pesadas para formar dos Fab idénticos que se unen a uno de los antígenos diana. Como en muchos de los casos de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En esta realización, los pares Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.
- 45 Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

Además, los dominios Fc del formato mAb-scFv generalmente comprenden variantes de sesgo (p. ej. un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

- 5 En algunos casos, el formato mAb-scFv incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. De particular uso en algunos casos n este formato, son (orden Fab-scFv) CTLA-
10 4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

- 15 En algunos casos, el formato mAb-scFv incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En formatos mAb-scFv, las combinaciones Fv específicas de uso en la presente invención incluyen CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv), PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv), LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv), BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) y LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv).

- 20 En el armazón mAb-scFv 1 (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.

- 25 En el armazón mAb-scFv 1 (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, entre otros, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416.

- 30 35 En el armazón mAb-scFv 1 (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, entre otros, 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002.

En el armazón de mAb-scFv 1 (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, entre otros, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738.

5 En el armazón mAb-scFv 1 (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, entre otros, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8 H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9 H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706.

10 D. scFv central

Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato Central-scFv mostrado en la figura 1F. En este ejemplo, el formato se basa en el uso de un dominio scFv insertado formando así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde las porciones Fab de los dos monómeros se unen a una diana de punto de control y el dominio scFv “adicional” se une a otra. El dominio scFv se inserta entre el dominio Fc y la región CH1-Fv de uno de los monómeros, para proporcionar así un tercer dominio de unión a antígeno.

15 En este ejemplo, un monómero comprende una primera cadena pesada que comprende un primer dominio pesado variable, un dominio CH1 (y una bisagra opcional) y un dominio Fc, con un scFv que comprende un dominio ligero variable scFv, un enlazador scFv y un dominio pesado variable scFv. El scFv se une covalentemente entre el carboxiloterminal del dominio CH1 del dominio constante pesado y el aminoterminal del primer dominio Fc utilizando enlazadores de dominio opcionales (vh1-CH1-[enlazador opcional]-vh2-scFv enlazador-vl2-[enlazador opcional incluyendo la bisagra]-CH2-CH3, o la orientación opuesta para el scFv, vh1-CH1-[enlazador opcional]-vl2-scFv enlazador-vh2-[enlazador opcional incluyendo la bisagra]-CH2-CH3). El otro monómero es una cara Fab estándar.

20 Este ejemplo utiliza además una cadena ligera común que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con las cadenas pesadas para formar dos Fab idénticos que se unen a un inhibidor del punto de control. Como para muchos de los ejemplos en la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describe en la presente memoria. En este ejemplo, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados primero, scFv segundo)

25 PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.

30

35 Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

Además, los dominios Fc del formato scFv central generalmente comprenden variantes de sesgo (p. ej. un conjunto 40 de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados 45 en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

En algunos ejemplos, el formato scFv central incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor del punto de control, y un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En este ejemplo, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

60 En algunos ejemplos, el formato scFv central incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo 65

- L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En este ejemplo, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.
- 5
- 10 Para secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (opcionalmente incluyendo M428L/N434S), las combinaciones Fv específicas de uso en la presente descripción incluyen CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv), PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv), LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv), BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) y LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv).
- 15
- 15 Para las secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37, (opcionalmente incluyendo M428L/N434S), los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.
- 20
- 20 Para las secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (opcionalmente incluyendo M428L/N434S), los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, pero no se limitan a, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416.
- 25
- 30
- 35
- 35 Para las secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (incluyendo opcionalmente M428L/N434S), los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002.
- 40
- 45
- 45 Para secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (opcionalmente incluyendo M428L/N434S), los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738.
- 50
- 50 Para secuencias centrales-scFv que son similares a/utilizan el armazón abrebotellas 1 de la figura 37 (opcionalmente incluyendo M428L/N434S), los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706.
- 55
- 55 E. Formato central-Fv
- 60
- Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato Central-Fv mostrado en la figura 1G. En este caso, el formato se basa en el uso de un dominio scFv insertado, formando así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde las porciones Fab de los dos monómeros se unen a una diana de punto de control y el dominio scFv “adicional” se une a otra. El dominio scFv se inserta entre el dominio Fc y la región CH1-Fv de los monómeros, para proporcionar así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde cada monómero contiene un componente del scFv (por ejemplo, un monómero comprende un dominio pesado variable y el otro un dominio ligero variable).
- 65
- 65 En este caso, un monómero comprende una primera cadena pesada que comprende un primer dominio pesado variable, un dominio CH1 y un dominio Fc y un dominio ligero variable adicional. El dominio ligero está unido

covalentemente entre el carboxiloterminal del dominio CH1 del dominio constante pesado y el aminoterminal del primer dominio Fc utilizando enlazadores de dominio (vh1-CH1-[enlazador opcional]-vl2-bisagra-CH2-CH3). El otro monómero comprende una primera cadena pesada que comprende un primer dominio pesado variable, un dominio CH1 y un dominio Fc y un dominio pesado variable adicional (vh1-CH1-[enlazador opcional]-vh2-bisagra-CH2-CH3).

- 5 El dominio ligero se une covalentemente entre el extremo C-terminal del dominio CH1 del dominio constante pesado y el extremo N-terminal del primer dominio Fc con el uso de enlazadores de dominio. Este caso utiliza además una cadena ligera común que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con las cadenas pesadas para formar dos Fab idénticos que se unen a un TTA. Como en muchos de los casos de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En esta realización, los pares Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.
- 10
- 15

Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

- 20 En formatos de scFv central, las combinaciones de Fv específicas de uso en la presente invención incluyen CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv), PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv), LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv), BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) y LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv).

- 25 En formatos central-scFv, los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 6209-11464, las Id. de sec. n.º 11465-17134, las Id. de sec. n.º 33003-33072, las Id. de sec. n.º 33073-35394 y las Id. de sec. n.º 36127-36146.

- 30 En formatos central-scFv, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, entre otros, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 21-2918, las Id. de sec. n.º 2919-6208, las Id. de sec. n.º 36739-36818 y las Id. de sec. n.º 35395-35416.
- 35
- 40

En los formatos centrales-scFv, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, entre otros, 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 17135-20764, las Id. de sec. n.º 36819-36962, las Id. de sec. n.º 35417-35606, las Id. de sec. n.º 25194-32793 y las Id. de sec. n.º 32794-33002.

- 50 En los formatos centrales-scFv, los ABD específicos que se unen a la BTLA humana incluyen, entre otros, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 20885-21503 y las Id. de sec. n.º 36707-36738.

- 55 En los formatos centrales-scFv, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, entre otros, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º 20765-20884, las Id. de sec. n.º 37587-37698 y las Id. de sec. n.º 36347-36706.

F. Central-scFv de un brazo

- 60 Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato de SCFv central armado que se muestra en la figura 1C. En este caso, un monómero comprende solo un dominio Fc, mientras que el otro monómero utiliza un dominio scFv insertado, formando así el segundo dominio de unión al antígeno. En este formato, la porción Fab se une a una diana de control y el scFv se une a otra. El dominio scFv se inserta entre el dominio Fc y la región CH1-Fv de uno de los monómeros.

En este caso, un monómero comprende una primera cadena pesada que comprende un primer dominio pesado variable, un dominio CH1 y un dominio Fc, con un scFv que comprende un dominio ligero variable de scFv, un enlazador de scFv y un dominio pesado variable de scFv. El scFv se une covalentemente entre el extremo C-terminal del dominio CH1 del dominio constante pesado y el extremo N-terminal del primer dominio Fc con el uso de enlazadores de dominio. El segundo monómero comprende un dominio Fc. Este caso utiliza además una cadena ligera que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con la cadena pesada para formar un Fab. Como en muchos de los casos de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En este caso, los pares Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTIA, BTIA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTIA, BTIA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTIA, BTIA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTIA, BTIA y LAG-3, BTIA y TIGIT, y TIGIT y BTIA.

Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

Además, los dominios Fc del formato central-scFv de un brazo generalmente comprenden variantes de sesgo (p. ej. un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

En algunos casos, el formato central-scFv de un brazo incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En este caso, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTIA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

En algunos casos, el formato central-scFv de un brazo incluye variantes de desviación, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En este caso, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTIA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

En uno de los formatos central-scFv de un brazo, los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6 _H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9 _H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.

En los formatos central-scFv de un brazo, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, entre otros, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121;

[CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 21-2918, las Id. de sec. n.º 2919-6208, las Id. de sec. n.º 36739-36818 y las Id. de sec. n.º 35395-35416.

En los formatos central-scFv de un brazo, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 17135-20764, las Id. de sec. n.º 36819-36962, las Id. de sec. n.º 35417-35606, las Id. de sec. n.º 25194-32793 y las Id. de sec. n.º 32794-33002.

En los formatos central-scFv de un brazo, los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 20885-21503 y las Id. de sec. n.º 36707-36738.

En los formatos central-scFv de un brazo, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, entre otros, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º 20765-20884, las Id. de sec. n.º 37587-37698 y las Id. de sec. n.º 36347-36706.

25 G. scFv-mAb de un brazo

Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato scFv-mAb de un brazo que se muestra en la figura 1D. En este caso, un monómero comprende solo un dominio Fc, mientras que el otro monómero utiliza un dominio scFv unido al extremo aminoterminal de la cadena pesada, generalmente mediante el uso de un enlazador: vh-scFv enlazador-vl-[enlazador de dominio opcional]-CH1-bisagra-CH2-CH3 o (en la orientación opuesta) vl-scFv enlazador-vh-[enlazador de dominio opcional]-CH1-bisagra-CH2-CH3. En este formato, la porción Fab se une a una diana de control y el scFv se une a otra. Este caso utiliza además una cadena ligera que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con la cadena pesada para formar un Fab. Como en muchos de los casos de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En este caso, los pares Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.

Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

Además, los dominios Fc comprenden variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

En algunos casos, el formato scFv-mAb de un brazo incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos abreboteñas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En esta realización, los pares

de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

En algunos casos, el formato scFv-mAb de un brazo incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En este caso, los pares de Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) CTLA-4 X PD-1, PD-1 X CTLA-4, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

En los formatos scFv-mAb de un brazo, los ABD específicos que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 6209-11464, las Id. de sec. n.º 11465-17134, las Id. de sec. n.º 33003-33072, las Id. de sec. n.º 33073-35394 y las Id. de sec. n.º 36127-36146.

En los formatos de scFv-mAb de un brazo, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, entre otros, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 21-2918, las Id. de sec. n.º 2919-6208, las Id. de sec. n.º 36739-36818 y las Id. de sec. n.º 35395-35416.

En los formatos scFv-mAb de un brazo, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 2A11_H0L0; ; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 17135-20764, las Id. de sec. n.º 36819-36962, las Id. de sec. n.º 35417-35606, las Id. de sec. n.º 25194-32793 y las Id. de sec. n.º 32794-33002.

En los formatos scFv-mAb de un brazo, los ABD específicos que se unen a BTLA humano incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º 20885-21503 y las Id. de sec. n.º 36707-36738.

En los formatos scFv-mAb de un brazo, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, pero no se limitan a, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º 20765-20884, las Id. de sec. n.º 37587-37698 y las Id. de sec. n.º 36347-36706.

55 H. Formato scFv-mAb

Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente descripción es el formato mAb-scFv mostrado en la figura 1E. En este caso, el formato se basa en el uso de una unión aminoterminal de un scFv a uno de los monómeros, formando así un tercer dominio de unión a antígeno, en donde las porciones Fab de los dos monómeros se unen a una diana de punto de control y el dominio scFv “adicional” se une a una diana de punto de control diferente.

En este caso, el primer monómero comprende una primera cadena pesada (que comprende un dominio pesado variable y un dominio constante), con un scFv unido covalentemente aminoterminal que comprende un dominio ligero variable scFv, un enlazador scFv y un dominio pesado variable scFv en cualquier orientación ((enlazador vh1-scFv-vl1-[enlazador de dominio opcional]-vh2-CH1-bisagra-CH2-CH3) o (con el scFv en la orientación opuesta) ((enlazador

vl1-scFv-vh1-[enlazador de dominio opcional]-vh2-CH1-bisagra-CH2-CH3)). Este caso utiliza además una cadena ligera común que comprende un dominio ligero variable y un dominio ligero constante, que se asocia con las cadenas pesadas para formar dos Fab idénticos que se unen a uno de los antígenos diana. Como en muchos de los casos de la presente memoria, estas construcciones incluyen variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión, variantes de Fc adicionales, etc., según se deseé y se describa en la presente memoria. En esta realización, los pares 5 Fv adecuados incluyen (Fab enumerados en primer lugar, scFv en segundo lugar) PD-1 y CTLA-4, CTLA-4 y PD-1, PD-1 y TIM-3, TIM-3 y PD-1, PD-1 y LAG-3, LAG-3 X PD1, PD-1 y TIGIT, TIGIT y PD-1, PD-1 y BTLA, BTLA y PD-1, CTLA-4 y TIM-3, TIM-3 y CTLA-4, CTLA-4 y LAG-3, LAG-3 y CTLA-4, CTLA-4 y TIGIT, TIGIT y CTLA-4, CTLA-4 y BTLA, BTLA y CTLA-4, TIM-3 y LAG-3, LAG-3 y TIM-3, TIM-3 y TIGIT, TIGIT y TIM-3, TIM-3 y BTLA, BTLA y TIM-3. 10 LAG-3 y TIGIT, TIGIT y LAG-3, LAG-3 y BTLA, BTLA y LAG-3, BTLA y TIGIT, y TIGIT y BTLA.

Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

15 Además, los dominios Fc del formato scFv-mAb comprenden variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S; S364K; L368E/K370S; S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión 20 (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

25 En algunos casos, el formato mAb-scFv incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunas realizaciones incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero 30 que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) 35 que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En algunas realizaciones en este formato, son de uso particular (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

40 En algunos casos, el formato mAb-scFv incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, 45 con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe 50 en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. Son particularmente útiles en algunos casos en este formato, (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

55 Para el armazón 1 en formato mAb-scFv (incluyendo opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a PD-1 humano incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146.

60 Para el armazón 1 en formato mAb-scFv (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a CTLA-4 humano incluyen, pero no se limitan a, [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-

4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67 y [CTLA-4]_H3_L0.74, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416.

Para el armazón 1 en formato mAb-scFv (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a LAG-3 humano incluyen, entre otros, 2A11H0L0; ; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002.

Para el armazón 1 en formato mAb-scFv (incluyendo opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a BTLA humana incluyen, pero no se limitan a, 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1, así como los enumerados en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738.

Para el armazón 1 en formato mAb-scFv (que incluye opcionalmente M428L/N434S) de la figura 38, los ABD específicos que se unen a TIM-3 humano incluyen, entre otros, 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0 y 7C2_H0L0, así como los enumerados en la Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706.

I. Formatos scFv duales

La presente descripción también proporciona formatos scFv duales como se conocen en la técnica y se muestran en la figura 1B. En este caso, el anticuerpo biespecífico heterodimérico se compone de dos monómeros scFv-Fc (ambos en formato (vh-scFv enlazador-vl-[enlazador de dominio opcional]-CH2-CH3) o (vl-scFv enlazador-vh-[enlazador de dominio opcional]-CH2-CH3), o con un monómero en una orientación y el otro en la otra orientación.

En este caso, todos los ABD están en el formato scFv, con cualquier combinación de PD-1 y CTLA-4, PD-1 y TIM-3, PD-1 y LAG-3, PD-1 y TIGIT, PD-1 y BTLA, CTLA-4 y TIM-3, CTLA-4 y LAG-3, CTLA-4 y TIGIT, CTLA-4 y BTLA, TIM-3 y LAG-3, TIM-3 y TIGIT, TIM-3 y BTLA, LAG-3 y TIGIT, LAG-3 y BTLA y TIGIT y BTLA. Las secuencias ABD para estas combinaciones pueden ser como se indica en el listado de secuencias o como se muestra en las figuras 9 a 13, y en cualquier combinación como se muestra en la figura 39 y la figura 40.

Además, los dominios Fc del formato scFv dual comprenden variantes de sesgo (p. ej. un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q; L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C), opcionalmente variantes de supresión (que incluyen las mostradas en la figura 5), enlazadores de scFv opcionalmente cargados (que incluyen los mostrados en la figura 7) y la cadena pesada comprende variantes de pl (que incluye las mostradas en la figura 4).

En algunos casos, el formato scFv dual incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena ligera variable, que junto con la segunda cadena pesada variable forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. Son particularmente útiles en algunos casos en este formato, (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

En algunos casos, el formato scFv dual incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero que comprende las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio ligero variable de la cadena ligera, constituye un Fv que se une a un primer inhibidor de punto de control, y un segundo dominio pesado variable; b) un segundo monómero que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un primer dominio pesado variable que, con el primer dominio variable ligero, forma el Fv que se une al primer inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria, y una segunda cadena variable ligera, que junto con la segunda cadena variable pesada forma un Fv (ABD) que se une a un segundo inhibidor de punto de control; y c) una cadena ligera que comprende un

primer dominio ligero variable y un dominio ligero constante. En algunas realizaciones en este formato, son de uso particular (orden Fab-scFv) CTLA-4 X PD-1, LAG-3 X PD-1, BTLA X PD-1, y LAG-3 X CTLA-4.

J. Anticuerpos biespecíficos no heterodiméricos

- 5 Como apreciarán los expertos en la materia, las secuencias de Fv descritas en la presente memoria también pueden utilizarse en anticuerpos monoespecíficos (p. ej., “anticuerpos monoclonales tradicionales”) o en formatos biespecíficos no heterodiméricos.
- 10 Los formatos biespecíficos no heterodiméricos adecuados son conocidos en la técnica, e incluyen una serie de formatos diferentes, como se representa en general en Spiess y otros, Molecular Immunology (67):95-106 (2015) y Kontermann, mAb 4:2, 182-197 (2012).

K. Anticuerpos monoclonales monoespecíficos

- 15 Como apreciarán los expertos en la materia, las nuevas secuencias de Fv descritas en la presente memoria también pueden utilizarse en anticuerpos monoespecíficos (p. ej., “anticuerpos monoclonales tradicionales”) o en formatos biespecíficos no heterodiméricos. Por consiguiente, la presente descripción proporciona anticuerpos monoclonales (monoespecíficos) que comprenden las 6 CDR y/o las secuencias vh y vl de las figuras, generalmente con regiones constantes IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, encontrando uso particular en algunos casos IgG1, IgG2 e IgG4 (incluyendo regiones constantes IgG4 que comprenden una sustitución de aminoácidos S228P). Es decir, cualquier secuencia en la presente memoria con una designación “H L” puede vincularse a la región constante de un anticuerpo IgG1 humano.

VI. Dominios de unión a antígenos diana

- 25 Los anticuerpos biespecíficos de la invención tienen dos dominios de unión a antígeno (ABD) diferentes que se unen a dos antígenos de punto de control diana diferentes (“pares diana”), en formatos bivalentes, biespecíficos o trivalentes, biespecíficos, como se muestra en general en la figura 1. Entre los antígenos de punto de control diana adecuados se incluyen PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, TIGIT y BTLA humanos (y a veces de macaco), cuyas secuencias se muestran en la figura 2. Por consiguiente, los anticuerpos biespecíficos adecuados se unen a PD-1 y CTLA-4, PD-1 y TIM-3, PD-1 y LAG-3, PD-1 y TIGIT, PD-1 y BTLA, CTLA-4 y TIM-3, CTLA-4 y LAG-3, CTLA-4 y TIGIT, CTLA-4 y BTLA, TIM-3 y LAG-3, TIM-3 y TIGIT, TIM-3 y BTLA, LAG-3 y TIGIT, LAG-3 y BTLA y TIGIT y BTLA. Obsérvese que generalmente estos anticuerpos biespecíficos se denominan “anti-PD-1 X anti-CTLA-4”, o de forma simplista o por facilidad (y por tanto indistintamente) como “PD-1 X CTLA-4”, etc. para cada par. Obsérvese que, a menos que se especifique en la presente memoria, el orden de la lista de antígenos en el nombre no confiere estructura; que es un anticuerpo abrebotellas dirigido contra PD-1 X CTLA-4 puede hacer que el scFv se una a PD-1 o CTLA-4, aunque en algunos casos, el orden especifica la estructura como se indica.

- 40 Como se describe más detalladamente en la presente memoria, estas combinaciones de ABD pueden tener diversos formatos, como se describe a continuación, generalmente en combinaciones en las que un ABD tiene un formato Fab y el otro tiene un formato scFv. Como se expone en la presente memoria y se muestra en la figura 1, algunos formatos utilizan un único Fab y un único scFv (figura 1A, C y D), y otros formatos utilizan dos Fab y un único scFv (figura 1E, F, G, H e I).

45 A. Dominios de unión a antígeno

- Como se expone en la presente memoria, los anticuerpos heterodiméricos biespecíficos de punto de control de la invención incluyen dos dominios de unión a antígeno (ABD), cada uno de los cuales se une a una proteína de punto de control diferente. Como se describe en la presente memoria, estos anticuerpos heterodiméricos pueden ser biespecíficos y bivalentes (cada antígeno está unido a un único ABD, por ejemplo, en el formato representado en la figura 1A), o biespecíficos y trivalentes (un antígeno está unido a un único ABD y el otro está unido a dos ABD, por ejemplo, como se representa en la figura 1F).

- 55 Además, en general, uno de los ABD comprende un scFv como se describe en la presente memoria, en una orientación de aminoterminal a carboxiloterminal de vh-scFv enlazador-vl o vl-scFv enlazador-vh. Uno o ambos de los otros ABD, según el formato, generalmente es un Fab, que comprende un dominio vh en una cadena proteica (generalmente como componente de una cadena pesada) y un vl en otra cadena proteica (generalmente como componente de una cadena ligera).

- 60 La descripción proporciona una serie de ABD que se unen a una serie de proteínas de punto de control diferentes, como se describe a continuación. Como apreciarán los expertos en la materia, cualquier conjunto de 6 CDR o dominios vh y vl puede estar en el formato scFv o en el formato Fab, que luego se añade a los dominios constantes pesado y ligero, donde los dominios constantes pesados comprenden variantes (incluyendo dentro del dominio CH1 así como el dominio Fc). Las secuencias de scFv contenidas en el listado de secuencias utilizan un enlazador cargado particular, pero como se indica en la presente memoria, pueden utilizarse enlaces no cargados u otros enlaces cargados, incluidos los representados en la figura 7.

Además, como se ha comentado anteriormente, la numeración utilizada en el listado de secuencias para la identificación de las CDR es Kabat, sin embargo, se puede utilizar una numeración diferente, lo que cambiará las secuencias de aminoácidos de las CDR como se muestra en la tabla 1.

5 Para todos los dominios pesados y ligeros variables enumerados en la presente memoria, se pueden realizar otras variantes. Como se describe en la presente memoria, en algunas realizaciones el conjunto de 6 CDR puede tener de 0, 1, 2, 3, 4 o 5 modificaciones de aminoácidos (con sustituciones de aminoácidos que encuentran un uso particular), así como cambios en las regiones marco de los dominios variables pesados y ligeros, siempre que las estructuras 10 (excluyendo las CDR) conserven al menos alrededor del 80, 85 o 90 % de identidad con una secuencia de línea germinal humana seleccionada de entre las enumeradas en la figura 1 de la Patente de EE. UU. n.º 7.657.380, cuya figura y Leyenda. Por tanto, por ejemplo, las CDR idénticas descritas en la presente memoria pueden combinarse con 15 diferentes secuencias marco procedentes de secuencias de la línea germinal humana, siempre que las regiones marco mantengan al menos un 80, 85 o 90 % de identidad con una secuencia de la línea germinal humana seleccionada de entre las enumeradas en la figura 1 de la Patente de EE.UU. n.º 7.657.380. Como alternativa, las CDR pueden tener 20 modificaciones de aminoácidos (p. ej. de 1, 2, 3, 4 o 5 modificaciones de aminoácidos en el conjunto de CDR (es decir, las CDR pueden modificarse siempre que el número total de cambios en el conjunto de 6 CDR sea inferior a 6 modificaciones de aminoácidos, pudiendo modificarse cualquier combinación de CDR; p. ej., puede haber un cambio en vLCDR1, dos en vhCDR2, ninguno en vhCDR3, etc.)), así como tener cambios en la región marco, siempre que las regiones marco conserven al menos un 80, 85 o 90 % de identidad con una secuencia de línea germinal humana seleccionada de entre las enumeradas en la figura 1 de la Patente de EE.UU. n.º 7.657.380.

B. Dominios de unión a antígeno PD-1

25 En algunos casos, uno de los ABD se une a PD-1. En las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 se representan conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como secuencias scFv. Las secuencias ABD de especial 30 interés en algunos casos se muestran en la figura 9 e incluyen aquellas secuencias del listado de secuencias con los identificadores 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1.

35 Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-PD-1 adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR como se representa en estas secuencias y figuras, ya sea como están subrayadas o, en el caso de que se utilice un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la Tabla 1, como las CDR que se identifican utilizando otras alineaciones dentro de las secuencias vh y vl de las Id. de sec. n.º: 6209- 40 11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146. Los ABD adecuados también pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los casos en la presente memoria que contienen un Fv dirigido contra PD-1, es el monómero scFv el que se une a PD-1. Como se discute en la presente memoria, el otro del par diana cuando PD-1 es uno de los antígenos se selecciona de CTLA-4 (las 45 secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), TIM-3 (las secuencias adecuadas se describen en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), LAG-3 (las secuencias adecuadas se describen en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las 50 Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), BTLA (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y TIGIT (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)).

Los ABD particularmente útiles que se unen a PD-1 humana incluyen, pero no se limitan a, 1G6_H1.279_L1.194, 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279, 1G6_L1.210_H1.288 y 2E9_H1L1.

55 Además de los conjuntos de CDR originales descritos en el listado de secuencias que forman un ABD contra PD-1, la descripción proporciona conjuntos de CDR variantes. En un caso, un conjunto de 6 CDR puede tener 1, 2, 3, 4 o 5 cambios de aminoácidos con respecto a las CDR originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos 60 casos.

Además de los dominios pesados y ligeros variables originales descritos en la presente memoria que forman un ABD contra PD-1, la descripción proporciona dominios vh y vl variantes. En un caso, los dominios vh y vl variantes pueden tener cada uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 cambios de aminoácidos con respecto a los dominios vh y vl originales, 65 siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida en al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones de superficie (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet),

siendo este último particularmente utilizado en muchos casos. En otro caso, las variantes vh y vl son al menos 90, 95, 97, 98 o 99 % idénticas a las respectivas vh o vl precursoras, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, medido mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos

5 casos.

Algunos ejemplos preferidos específicos incluyen el Fv anti-PD-1 1G6_L1.194_H1.279, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

10 Algunos ejemplos preferidos específicos incluyen el Fv anti-PD-1 1G6_L1.194_H1.279, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato mAb-scFv de la figura 38.

C. Dominios de unión a antígeno CTLA-4

15 En algunos casos, uno de los ABD se une a CTLA-4. En las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 se muestran conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como secuencias de scFv. Las secuencias de ABD de especial interés en algunos casos se muestran en la figura 10 y también incluyen aquellas secuencias del listado de secuencias con los identificadores [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; 0[CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67; y [CTLA-4]_H3_L0.74.

20

25

30 Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-CTLA-4 adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR como se representa en estas secuencias y figuras, bien como están subrayadas o, en el caso de que se utilice un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la tabla 1, como las CDR que se identifican usando otros alineamientos dentro de las secuencias vh y vl de las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416. Los ABD adecuados también pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los casos en la presente memoria que contienen un Fv dirigido contra CTLA-4, es el monómero scFv el que se une a CTLA-4. Como se expone en la presente memoria, el otro del par diana cuando CTLA-4 es uno de los antígenos se selecciona entre PD-1 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), TIM-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), LAG-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), BTLA (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y TIGIT (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl))).

35

40

45

50 Además de los conjuntos de CDR originales descritos en el listado de secuencias que forman un ABD contra CTLA-4, la descripción proporciona conjuntos de CDR variantes. En un caso, un conjunto de 6 CDR puede tener 1, 2, 3, 4 o 5 cambios de aminoácidos con respecto a las CDR originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos

55 casos.

Además de los dominios pesados y ligeros variables originales descritos en la presente memoria que forman un ABD para CTLA-4, la invención proporciona dominios vh y vl variantes. En un caso, los dominios vh y vl variantes pueden tener cada uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 cambios de aminoácidos con respecto a los dominios vh y vl originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida en al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones de superficie (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos casos. En otro caso, las variantes vh y vl son al menos 90, 95, 97, 98 o 99 % idénticas a las respectivas vh o vl precursoras, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, medido mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos

60

65

Ejemplos específicos preferidos incluyen el Fv [CTLA-4]_H3_L0.22 anti-CTLA-4, en un formato Fab, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

5 Los casos preferidos específicos incluyen el Fv [CTLA-4]_H3_L0.22 anti-CTLA-4, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

10 Los casos específicos preferidos incluyen el Fv [CTLA-4]_H3_L0.22 anti-CTLA-4, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato mAb-scFv de la figura 38.

10 Los casos específicos preferidos incluyen el Fv [CTLA-4]_H3_L0.22 anti-CTLA-4, en un formato Fab, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato mAb-scFv de la figura 38.

D. Dominios de unión a antígeno TIM-3

15 En algunos ejemplos, uno de los ABD se une a TIM-3. Los conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como las secuencias scFv, se representan en las Id. de sec. n.º 20765-20884, las Id. de sec. n.º 37587-37698 y las Id. de sec. n.º 36347-36706. Las secuencias ABD de particular interés en algunos ejemplos incluyen aquellas secuencias en el listado de secuencias con los identificadores 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 20 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0; y 7C2_H0L0.

25 Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-TIM-3 adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR tal como se representa en estas secuencias y figuras, ya sea tal como están subrayadas o, en el caso de que se utilice un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la tabla 1, como las CDR que se identifican utilizando otros alineamientos dentro de las secuencias vh y vl de las Id. de sec. n.º 20765-20884, las Id. de sec. n.º 37587-37698 y las Id. de sec. n.º 36347-36706. Los ABD adecuados también 30 pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los ejemplos en la presente memoria que contienen un Fv contra TIM-3, es el monómero Fab el que se une a TIM-3. Como se expone en la presente memoria, el otro del par diana cuando TIM-3 es uno de los antígenos se selecciona entre PD-1 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º 6209-11464, las Id. de sec. n.º 11465-17134, las Id. de sec. n.º 33003-33072, las Id. de sec. n.º 33073-35394 y las Id. de sec. n.º 36127-36146 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), 35 CTLA-4 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º 21-2918, las Id. de sec. n.º 2919-6208, las Id. de sec. n.º 36739-36818 y las Id. de sec. n.º 35395-35416 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), LAG-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º 17135-20764, las Id. de sec. n.º 36819-36962, las Id. de sec. n.º 35417-35606, las Id. de sec. n.º 25194-32793 y las Id. de sec. n.º 32794-33002 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), BTLA (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º 20885-21503 y las Id. de sec. n.º 36707-36738 (que 40 pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y TIGIT (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º 21504-21523 y las Id. de sec. n.º 37435-37586 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl))).

45 Además de los conjuntos de CDR originales descritos en el listado de secuencias que forman un ABD contra TIM-3, la descripción proporciona conjuntos de CDR variantes. En un ejemplo, un conjunto de 6 CDR puede tener 1, 2, 3, 4 o 5 cambios de aminoácidos con respecto a las CDR originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos ejemplos.

50 Además de los dominios pesados y ligeros variables originales descritos en la presente memoria que forman un ABD contra TIM-3, la descripción proporciona dominios vh y vl variantes. En un ejemplo, los dominios vh y vl variantes pueden tener cada uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 cambios de aminoácidos con respecto a los dominios vh y vl originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida en al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones de superficie (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos ejemplos. En otro ejemplo, las variantes vh y vl son al menos 90, 95, 97, 98 o 99 % idénticas a las respectivas vh o vl precursoras, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, medido mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos casos.

60 Dominios de unión a antígeno LAG-3

65 En algunos ejemplos, uno de los ABD se une a LAG-3. Los conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como las secuencias scFv, se describen en las Id. de sec. n.º 17135-20764, las Id. de sec. n.º 36819-36962, las Id. de sec. n.º 35417-35606, las Id. de sec. n.º 25194-32793 y las Id. de sec. n.º 32794-33002. Las secuencias ABD de especial interés en algunos ejemplos se muestran en la figura 11 y también incluyen aquellas secuencias del listado

de secuencias con los identificadores 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1.

Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-LAG-3 adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR tal como se representa en estas secuencias y figuras, ya sea tal como están subrayadas o, en el caso de que se utilice un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la tabla 1, como las CDR que se identifican utilizando otros alineamientos dentro de las secuencias vh y vl de las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002. Los ABD adecuados también pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los ejemplos en la presente memoria que contienen un Fv contra LAG-3, es el monómero Fab el que se une a LAG-3. Como se expone en la presente memoria, el otro del par diana cuando LAG-3 es uno de los antígenos se selecciona entre PD-1 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), CTLA-4 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), TIM-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), BTLA (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y TIGIT (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)).

Además de los conjuntos de CDR originales descritos en el listado de secuencias que forman un ABD contra LAG-3, la descripción proporciona conjuntos de CDR variantes. En un ejemplo, un conjunto de 6 CDR puede tener 1, 2, 3, 4 o 5 cambios de aminoácidos con respecto a las CDR originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmiones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos ejemplos.

Además de los dominios pesados y ligeros variables originales descritos en la presente memoria que forman un ABD para LAG-3, la invención proporciona dominios vh y vl variantes. En un ejemplo, los dominios vh y vl variantes pueden tener cada uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 cambios de aminoácidos con respecto a los dominios vh y vl originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmiones de superficie (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), encontrando este último un uso particular en muchos ejemplos. En otro ejemplo, las variantes vh y vl son al menos 90, 95, 97, 98 o 99 % idénticas a las respectivas vh o vl precursoras, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, medido mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmiones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos casos.

Algunos ejemplos preferidos específicos incluyen el Fv anti-LAG-3 7G8_H3.30_L1.34, en un formato Fab, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

Algunos ejemplos preferidos específicos incluyen el Fv anti-LAG-3 7G8_H3.30_L1.34, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

E. Dominios de unión a antígeno BTLA

En algunos ejemplos, uno de los ABD se une a BTLA. En las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 se muestran conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como secuencias scFv. Las secuencias ABD de especial interés en algunos ejemplos se muestran en la figura 12 y también incluyen aquellas secuencias del listado de secuencias con los identificadores 9C6_H0L0; 9C6_H1.1_L1; y 9C6_H1.11_L1.

Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-BT LA adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR como se representa en estas secuencias y figuras, ya sea como están subrayados o, en el caso de que se utilice un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la Tabla 1, como las CDR que se identifican utilizando otros alineamientos dentro de las secuencias vh y vl en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738. Los ABD adecuados también pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los ejemplos en la presente memoria que contienen un Fv a BT LA, es el monómero Fab el que se une a BT LA. Como se expone en la presente memoria, el otro del par diana cuando LAG-3 es uno de los antígenos se selecciona entre PD-1 (las

secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), CTLA-4 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-

5 35416 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), TIM-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), LAG-3 (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y TIGIT (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)).

10 Además de los conjuntos de CDR originales descritos en el listado de secuencias que forman un ABD con BTIA, la descripción proporciona conjuntos de CDR variantes. En un ejemplo, un conjunto de 6 CDR puede tener 1, 2, 3, 4 o 5 cambios de aminoácidos con respecto a las CDR originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida en al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), encontrando este último un uso particular en muchos ejemplos.

15 20 Además de los dominios pesados y ligeros variables originales descritos en la presente memoria que forman un ABD con BTIA, la descripción proporciona dominios vh y vl variantes. En un ejemplo, los dominios vh y vl variantes pueden tener cada uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 cambios de aminoácidos con respecto a los dominios vh y vl originales, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, según se mida mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones de superficie (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), encontrando este último un uso particular en muchos ejemplos. En otro ejemplo, las variantes vh y vl son al menos 90, 95, 97, 98 o 99 % idénticas a las respectivas vh o vl precursoras, siempre que el ABD siga siendo capaz de unirse al antígeno diana, medido mediante al menos uno de los ensayos Biacore, de resonancia de plasmones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente 25 30 utilizado en muchos casos.

Ejemplos específicos preferidos incluyen el Fv 9C6_H1.1_L1 anti-LAG-3, en un formato Fab, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

35 Algunos ejemplos preferidos específicos incluyen el Fv anti-LAG-3 7G8_H3.30_L1.34, en un formato scFv, incluido dentro de cualquiera de los armazones de formato abrebotellas de la figura 37.

F. Dominios de unión a antígeno TIGIT

40 45 En algunos ejemplos, uno de los ABD se une a TIGIT. En las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586 se muestran conjuntos adecuados de 6 CDR y/o dominios vh y vl, así como secuencias scFv.

Como apreciarán los expertos en la materia, los ABD anti-TIGIT adecuados pueden comprender un conjunto de 6 CDR como se representa en estas secuencias y figuras, ya sea como están subrayadas o, en el caso de que se utilice 50 un esquema de numeración diferente como se describe en la presente memoria y como se muestra en la tabla 1, como las CDR que se identifican utilizando otros alineamientos dentro de las secuencias vh y vl de las Id. de sec. n.º: 21504-21523 y las Id. de sec. n.º: 37435-37586. Los ABD adecuados también pueden incluir las secuencias vh y vl completas como se representa en estas secuencias y figuras, utilizadas como scFv o como Fab. En muchos de los ejemplos en la presente memoria que contienen un Fv a TIGIT, es el monómero Fab el que se une a TIGIT. Como se expone en la presente memoria, el otro del par diana cuando LAG-3 es uno de los antígenos se selecciona entre PD-1 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 6209-11464, las Id. de sec. n.º: 11465-17134, las Id. de sec. n.º: 33003-33072, las Id. de sec. n.º: 33073-35394 y las Id. de sec. n.º: 36127-36146 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), CTLA-4 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 21-2918, las Id. de sec. n.º: 2919-6208, las Id. de sec. n.º: 36739-36818 y las Id. de sec. n.º: 35395-35416 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), TIM-3 (las secuencias adecuadas se representan en las Id. de sec. n.º: 20765-20884, las Id. de sec. n.º: 37587-37698 y las Id. de sec. n.º: 36347-36706 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), LAG-3 (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 17135-20764, las Id. de sec. n.º: 36819-36962, las Id. de sec. n.º: 35417-35606, las Id. de sec. n.º: 25194-32793 y las Id. de sec. n.º: 32794-33002 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)), y BTIA (secuencias adecuadas representadas en las Id. de sec. n.º: 20885-21503 y las Id. de sec. n.º: 36707-36738 (que pueden ser secuencias scFv, conjuntos de secuencias CDR o secuencias vh y vl)).

G. Ejemplos específicos biespecíficos

65 La descripción proporciona una serie de anticuerpos biespecíficos particulares como se indica a continuación.

1. LAG-3 X CTLA-4

- En algunos casos, la descripción proporciona anticuerpos heterodiméricos biespecíficos que comprenden un primer ABD que se une a LAG-3 humano y un segundo ABD que se une a CTLA-4 humano, y puede estar en cualquier formato mostrado en la figura 1. La mayor parte de la descripción se refiere a un formato de abrebotellas en el que el Fab es el lado LAG-3 y el lado CTLA-4 es el lado scFv, pero esto puede invertirse para todos los ejemplos en la presente memoria.
- En un caso, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 tiene el formato de abrebotellas de la figura 1A, en donde el ABD CTLA-4 es el scFv. En otro caso, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra LAG-3 los componentes Fab. En otro caso, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra CTLA-4 el scFv.
- Los anticuerpos biespecíficos LAG-3 X CTLA-4 (en el formato de abrebotellas o en el formato de SCFv central) generalmente incluyen variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión como se describe en la presente memoria. Es decir, en cualquier formato, los dominios Fc de los dos monómeros pueden comprender variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8), opcionalmente variantes de supresión (incluidas las mostradas en la figura 5), y el monómero que comprende el lado Fab (por ejemplo, el dominio constante de cadena pesada) comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).
- En algunos casos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 comprende dominios Fc con variantes de sesgo, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C.
- En algunos casos, el anticuerpo LAG-3 X CTLA-4 incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero de scFv”) que comprende un enlazador de scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control según se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico utiliza el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el CTLA-4 scFv [CTLA-4]_H3.23_L0.129, aunque cualquiera de los Fv de CTLA-4 o LAG-3 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.
- En algunos casos, el anticuerpo LAG-3 X CTLA-4 incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos casos incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero de scFv”) que comprende un enlazador de scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de esta realización utiliza el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el CTLA-4 scFv [CTLA-4]_H3.23_L0.129, aunque cualquiera de los Fv de CTLA-4 o LAG-3 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.
- Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 37 con el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de CTLA-4 [CTLA-4]_H3.23_L0.129.
- Otros casos incluyen cualquiera de los armazones de la figura 38 con el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de CTLA-4 [CTLA-4]_H3.23_L0.129.
- En algunos casos, para los anticuerpos biespecíficos LAG-3 X CTLA-4, el Fv para el lado Fab de LAG-3 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1. El Fv para el lado scFv de CTLA-4 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores

[CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67; y [CTLA-4]_H3_L0.74.

10 En algunos casos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 se selecciona de las construcciones enumeradas en las Id. de sec. n.º: 35607-35866 y las Id. de sec. n.º: 21524-22620.

15 En algunos casos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X CTLA-4 se selecciona entre XENP20206, XENP21582, XENP21584, XENP21588, XENP22123, XENP22124, XENP22125, XENP22604, XENP22672, XENP22847, XENP22847, XENP22841 y XENP22849.

2. BTLA X PD-1

20 En algunos casos, la descripción proporciona anticuerpos heterodiméricos biespecíficos que comprenden un primer ABD que se une a BTLA humana y un segundo ABD que se une a PD-1 humana, y pueden estar en cualquier formato mostrado en la figura 1. La mayor parte de la descripción se refiere a un formato de abrebotellas en el que el Fab es el lado BTLA y el lado PD-1 es el lado scFv, pero esto puede invertirse para todos los casos en la presente memoria.

25 En un ejemplo, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 está en el formato abrebotellas de la figura 1A, en donde el ABD PD-1 es el scFv. En otro caso, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD BTLA los componentes Fab. En otro caso, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD PD-1 el scFv.

30 Los anticuerpos biespecíficos BTLA X PD-1 (en el formato de abridor de botella o en el formato de SCFv central) generalmente incluyen variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión como se describe en la presente memoria. Es decir, en cualquier formato, los dominios Fc de los dos monómeros pueden comprender variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8), opcionalmente variantes de supresión (incluidas las mostradas en la figura 5), y el monómero que comprende el lado 35 Fab (por ejemplo, el dominio constante de cadena pesada) comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).

En algunos casos, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 comprende dominios Fc con variantes de sesgo, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q; L368D/K370S; 40 L368D/K370S; S364K; L368E/K370S; S364K; T411T/E360E/Q362E; D401K; L368D/K370S; S364K/E357L, K370S; S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V; T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C.

En algunos ejemplos, el anticuerpo BTLA X PD-1 incluye variantes de desviación, variantes de pl y variantes de supresión. En consecuencia, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/ G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control según se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de este ejemplo utiliza el Fab BTLA 9C6_H1.1_L1 y el scFv PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de BTLA o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

55 En algunos ejemplos, el anticuerpo BTLA X PD-1 incluye variantes de desviación, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de inclinación S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/ G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico utiliza el Fab BTLA

9C6_H1.1_L1 y el scFv PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de BTLA o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

5 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 37 con el Fab de BTLA 9C6_H1.1_L1 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 38 con el Fab de BTLA 9C6_H1.1_L1 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

10 En algunos ejemplos, para los anticuerpos biespecíficos BTLA X PD-1, el Fv para el lado Fab de BTLA se selecciona de aquellas secuencias en el listado de secuencias con los identificadores 9C6_H0L0, 9C6_H1.1_L1, 9C6_H1.11_L1. El Fv para el lado scFv de PD-1 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1.

15 En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 se selecciona a partir de construcciones que incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º 22724-23315 y las Id. de sec. n.º 36147-36166.

En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico BTLA X PD-1 se selecciona entre XENP20895, XENP21220, XENP21221 y XENP22858.

20 3. CTLA-4 X PD-1

En algunos casos, la invención proporciona anticuerpos heterodiméricos biespecíficos que comprenden un primer ABD que se une a CTLA-4 humano y un segundo ABD que se une a PD-1 humano, y pueden estar en cualquier formato mostrado en la figura 1. La mayor parte de la descripción se refiere a un formato de abrebotellas en el que el Fab es el lado de CTLA-4 y el lado de PD-1 es el lado de scFv, pero esto puede invertirse para todas las realizaciones en la presente memoria.

30 En una realización, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 tiene el formato de abrebotellas de la figura 1A, en donde el ABD PD-1 es el scFv. En otro caso, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra CTLA-4 los componentes Fab. En otro caso, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra PD-1 el scFv.

35 Los anticuerpos biespecíficos CTLA-4 X PD-1 (en el formato de abrebotellas o en el formato de SCFv central) generalmente incluyen variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión como se describe en la presente memoria. Es decir, en cualquier formato, los dominios Fc de los dos monómeros pueden comprender variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8), opcionalmente variantes de supresión (incluidas las mostradas en la figura 5), y el monómero que comprende el lado Fab (por ejemplo, el dominio constante de cadena pesada) comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).

40 En algunos casos, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 comprende dominios Fc con variantes de sesgo, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q; L368D/K370S; L368D/K370S; S364K; L368E/K370S; S364K; T411T/E360E/Q362E; D401K; L368D/K370S; S364K/E357L, K370S; S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V; T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C.

45 En algunas realizaciones, el anticuerpo CTLA-4 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunas realizaciones incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el "monómero scFv") que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el "monómero Fab") que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control según se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de esta realización utiliza el Fab de CTLA-4 [CTLA-4]_H3_L0.22 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de CTLA-4 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

50 En algunas realizaciones, el anticuerpo CTLA-4 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunas realizaciones incluyen formatos de abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el "monómero de scFv") que comprende un enlazador de scFv cargado (siendo preferible en algunas realizaciones la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el "monómero Fab") que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,

las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de esta realización utiliza el Fab de CTLA-4 [CTLA-4]_H3_L0.22 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de CTLA-4 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

5 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 37 con el Fab de CTLA-4 [CTLA-4]_H3_L0.22 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

10 10 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 38 con el Fab de CTLA-4 [CTLA-4]_H3_L0.22 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

15 En algunos ejemplos, para los anticuerpos biespecíficos CTLA-4 X PD-1, el Fv para el lado Fab de CTLA-4 se selecciona de aquellas secuencias en el listado de secuencias con los identificadores con los identificadores [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67; y [CTLA-4]_H3_L0.74. El Fv para el lado scFv de PD-1 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 20 25 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1.

En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 se selecciona entre los enumerados como las Id. de sec. n.º 36167-36346 y las Id. de sec. n.º 23316-23735.

30 30 En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico CTLA-4 X PD-1 se selecciona entre XENP19738, XENP19739, XENP19741, XENP20053, XENP20066, XENP20130, XENP20146, XENP20717 y XENP22836.

4. LAG-3 X PD-1

35 35 En algunos casos, la descripción proporciona anticuerpos heterodiméricos biespecíficos que comprenden un primer ABD que se une a LAG-3 humano y un segundo ABD que se une a PD-1 humano, y puede estar en cualquier formato mostrado en la figura 1. La mayor parte de la descripción se refiere a un formato de abrebotellas en el que el Fab es el lado LAG-3 y el lado PD-1 es el lado scFv, pero esto puede invertirse para todos los ejemplos en la presente memoria.

40 40 En un ejemplo, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 tiene el formato de abrebotellas de la figura 1A, en donde el ABD PD-1 es el scFv. En otro caso, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra LAG-3 los componentes Fab. En otro caso, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra PD-1 el scFv.

45 45 Los anticuerpos biespecíficos LAG-3 X PD-1 (en el formato de abrebotellas o en el formato de SCFv central) generalmente incluyen variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión como se describe en la presente memoria. Es decir, en cualquier formato, los dominios Fc de los dos monómeros pueden comprender variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8), opcionalmente variantes de supresión (incluidas las mostradas en la figura 5), y el monómero que comprende el lado Fab (por ejemplo, el dominio constante de cadena pesada) comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).

55 55 En algunos casos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 comprende dominios Fc con variantes de sesgo, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L, K370S: S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V: T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C: T366W/S354C.

60 60 En algunos ejemplos, el anticuerpo LAG-3 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un

Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control según se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de este ejemplo utiliza el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de LAG-3 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

5 En algunos ejemplos, el anticuerpo LAG-3 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abreboteñas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de inclinación S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de este ejemplo utiliza el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de LAG-3 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

20 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 37 con el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 38 con el Fab de LAG-3 7G8_H3.30_L1.34 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

25 En algunos ejemplos, para los anticuerpos biespecíficos LAG-3 X PD-1, el Fv para el lado Fab de LAG-3 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 30 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_H3.30_L1.34; 7G8_H3.30_L1.34; y 7G8_H3L1. El Fv para el lado scFv de PD-1 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1.

35 En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 se selecciona a partir de construcciones que incluyen las enumeradas como las Id. de sec. n.º 35867-36126 y las Id. de sec. n.º 23736-25133.

En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico LAG-3 X PD-1 se selecciona entre XENP20206, XENP21582, XENP21584, XENP21588, XENP22123, XENP22124, XENP22125, XENP22604, XENP22672, XENP22847, XENP22847 y XENP22849.

40 5. TIGIT X PD-1

En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico TIGIT X PD-1 se selecciona entre las construcciones enumeradas en las Id. de sec. n.º 25134-25173.

45 6. TIM-3 X PD-1

En algunos casos, la descripción proporciona anticuerpos heterodiméricos biespecíficos que comprenden un primer ABD que se une a TIM-3 humano y un segundo ABD que se une a PD-1 humano, y puede estar en cualquier formato mostrado en la figura 1. La mayor parte de la descripción se refiere a un formato de abreboteñas en el que el Fab es el lado TIM-3 y el lado PD-1 es el lado scFv, pero esto puede invertirse para todos los ejemplos en la presente memoria.

55 En un ejemplo, el anticuerpo biespecífico TIM-3 X PD-1 tiene el formato de abreboteñas de la figura 1A, en donde el ABD contra PD-1 es el scFv. En otro caso, el anticuerpo biespecífico TIM-3 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra TIM-3 los componentes Fab. En otro caso, el anticuerpo biespecífico TIM-3 X PD-1 tiene el formato central-scFv de la figura 1F, siendo el ABD contra PD-1 el scFv.

60 Los anticuerpos biespecíficos TIM-3 X PD-1 (en el formato de abreboteñas o en el formato de ScFv central) generalmente incluyen variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión como se describe en la presente memoria. Es decir, en cualquier formato, los dominios Fc de los dos monómeros pueden comprender variantes de sesgo (por ejemplo, un conjunto de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la figura 3 y la figura 8), opcionalmente variantes de supresión (incluidas las mostradas en la figura 5), y el monómero que comprende el lado Fab (por ejemplo, el dominio constante de cadena pesada) comprende variantes de pl (incluidas las mostradas en la figura 4).

65

En algunos casos, el anticuerpo biespecífico TIM-3 X PD-1 comprende dominios Fc con variantes de sesgo, siendo particularmente útiles las variantes de sesgo seleccionadas del grupo que consiste en S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S; S364K; L368E/K370S; S364K; T411T/E360E/Q362E; D401K; L368D/K370S; S364K/E357L, K370S; S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V; T366W y T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C.

5 En algunos ejemplos, el anticuerpo TIM-3 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl y variantes de supresión. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de sesgo S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control según se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control según se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de este ejemplo utiliza el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de TIM-3 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

20 En algunos ejemplos, el anticuerpo TIM-3 X PD-1 incluye variantes de sesgo, variantes de pl, variantes de supresión y variantes de FcRn. Por consiguiente, algunos ejemplos incluyen formatos abrebotellas que comprenden: a) un primer monómero (el “monómero scFv”) que comprende un enlazador scFv cargado (siendo preferible en algunos ejemplos la secuencia +H de la figura 7), las variantes de inclinación S364K/E357Q, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un Fv que se une a un inhibidor de punto de control como se describe en la presente memoria; b) un segundo monómero (el “monómero Fab”) que comprende las variantes de sesgo L368D/K370S, las variantes de pl N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, las variantes de supresión E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, las variantes de FcRn M428L/N434S y un dominio pesado variable que, con el dominio ligero variable, constituye un Fv que se une a un segundo inhibidor del punto de control como se describe en la presente memoria; y c) una cadena ligera. Un ejemplo específico de esta realización utiliza el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279 aunque cualquiera de los Fv de TIM-3 o PD-1 del listado de secuencias puede emparejarse en cualquier combinación y utilizarse.

30 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 37 con un lado Fab de TIM-3 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

35 Algunos ejemplos adicionales incluyen cualquiera de los armazones de la figura 38 con el lado Fab de TIM-3 y el scFv de PD-1 1G6_L1.194_H1.279.

40 En algunos ejemplos, para anticuerpos biespecíficos de lado del Fab de TIM-3 X PD1, el Fv para el Fab del lado del Fab de TIM3 se selecciona entre aquellas secuencias en el listado de secuencias con los identificadores 1D10_H0L0; 1D12_H0L0; 3H3_H1_L2.1; 6C8_H0L0; 6D9_H0_1D12_L0; 7A9_H0L0; 7B11_H0L0; 7B11var_H0L0; y 7C2_H0L0. El Fv para el lado scFv de PD-1 se selecciona de entre las secuencias del listado de secuencias con los identificadores 1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; y 2E9_H1L1.

45 Además, los anticuerpos de la descripción incluyen aquellos que se unen al mismo epítopo que los dominios de unión a antígeno descritos en la presente memoria, o que compiten por unirse a los dominios de unión a antígeno descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo biespecífico de punto de control puede contener uno de los ABD descritos en la presente memoria y un segundo ABD que compite por la unión con uno de los ABD descritos en la presente memoria. En algunos ejemplos, ambos ABD compiten por la unión con el ABD correspondiente descrito en la presente memoria. La competencia de unión se determina generalmente utilizando al menos uno de los ensayos Biacore, resonancia de plasmiones superficiales (SPR) y/o BLI (interferometría de biocapas, p. ej. ensayo Octet), siendo este último particularmente utilizado en muchos ejemplos.

VII. Ejemplos útiles

55 En un caso, una combinación particular de variantes de sesgo y pl que encuentra uso en la presente descripción es T366S/L368A/Y407V; T366W (incluyendo opcionalmente un puente disulfuro, T366S/L368A/Y407V/Y349C; T366W/S354C) con un monómero compuesto por Q295E/N384D/Q418E/N481D y el otro un enlazador scFv cargado positivamente (cuando el formato incluye un dominio scFv). Como se apreciará en la técnica, las variantes de “botones y ojales” no cambian el pl y, por tanto, pueden utilizarse en cualquiera de los monómeros.

60 VIII. Ácidos nucleicos de la descripción

La descripción proporciona además composiciones de ácido nucleico que codifican los anticuerpos biespecíficos de la invención (o, en el caso de anticuerpos “monoespécíficos”, ácidos nucleicos que también los codifican).

65 Como apreciarán los expertos en la técnica, las composiciones de ácidos nucleicos dependerán del formato y el andamio de la proteína heterodimérica. Por tanto, por ejemplo, cuando el formato requiere tres secuencias de

aminoácidos, como para todos los formatos representados en la figura 1 excepto para el formato scFv dual, pueden incorporarse tres secuencias de ácido nucleico en uno o más vectores de expresión para su expresión. Del mismo modo, en algunos formatos (p. ej., formatos scFv duales como los que se muestran en la figura 1) solo se necesitan dos ácidos nucleicos; de nuevo, pueden colocarse en uno o dos vectores de expresión.

5 Como se conoce en la técnica, los ácidos nucleicos que codifican los componentes de la invención pueden incorporarse en vectores de expresión como se conoce en la técnica, y en dependencia de las células huésped usadas para producir los anticuerpos heterodiméricos de la invención. Generalmente, los ácidos nucleicos se unen operativamente a cualquier número de elementos reguladores (promotores, origen de replicación, marcadores de selección, sitios de unión al ribosoma, inductores, etc.). Los vectores de expresión pueden ser vectores extracromosómicos o de integración.

10 Los ácidos nucleicos y/o vectores de expresión de la descripción se transforman después en cualquier número de diferentes tipos de células hospedadoras como bien se conoce en la técnica, que incluyen células de mamíferos, bacterias, levaduras, insectos y/u hongos, las células de mamíferos (por ejemplo, células CHO) son útiles en muchas realizaciones.

15 En algunos ejemplos, los ácidos nucleicos que codifican cada monómero y el ácido nucleico opcional que codifica una cadena ligera, según corresponda en dependencia del formato, están contenidos cada uno dentro de un único vector de expresión, generalmente bajo controles de promotores diferentes o iguales. En ejemplos de uso particular en la presente descripción, cada uno de estos dos o tres ácidos nucleicos están contenidos en un vector de expresión diferente.

20 Se pueden utilizar diferentes proporciones de vectores para impulsar la formación de heterodímeros. Es decir, sorprendentemente, si bien las proteínas comprenden primer monómero:segundo monómero:cadenas ligeras (en el caso de muchas de las realizaciones en la presente memoria que tienen tres polipéptidos que comprenden el anticuerpo heterodimérico) en una relación de 1:1:2, estas no son las relaciones que dan los mejores resultados.

25 Los anticuerpos heterodiméricos de la descripción se fabrican cultivando células hospedadoras que comprenden el vector o vectores de expresión, como es bien conocido en la técnica. Una vez producidos, se realizan las etapas tradicionales de purificación de anticuerpos, que incluyen una etapa de cromatografía de intercambio iónico. Como se analiza en la presente memoria, el hecho de que los pl de los dos monómeros difieran en al menos 0,5 puede permitir la separación mediante una cromatografía de intercambio iónico o enfoque isoeléctrico u otros métodos sensibles al punto isoeléctrico. Es decir, la inclusión de sustituciones de pl que alteran el punto isoeléctrico (pl) de cada monómero 30 de modo que cada monómero tenga un pl diferente y el heterodímero también tenga un pl distinto, para facilitar así la purificación isoeléctrica del heterodímero "triple F" (por ejemplo, columnas de intercambio aniónico, columnas de intercambio catiónico). Estas sustituciones también ayudan en la determinación y monitorización de cualquier homodímero de doble scFv-Fc y mAb contaminante después de la purificación (por ejemplo, geles de IEF, cIEF y columnas IEX analíticas).

40 IX. Funcionalidad biológica y bioquímica de los anticuerpos heterodiméricos contra puntos de control

45 En general, los anticuerpos biespecíficos contra puntos de control de la invención se administran a pacientes con cáncer y su eficacia se evalúa de diversas maneras, tal como se describe en la presente memoria. Por tanto, mientras que pueden realizarse ensayos estándar de eficacia, como la carga de cáncer, el tamaño del tumor, la evaluación de la presencia o extensión de metástasis, etc., los tratamientos inmunoncoológicos pueden evaluarse también en función de las evaluaciones del estado inmunitario. Esto puede hacerse de varias maneras, incluyendo ensayos *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, se pueden evaluar los cambios en el estado inmunitario (por ejemplo, la presencia de células T CD4+ ICOS+ tras el tratamiento con ipi) junto con mediciones "a la antigua" como la carga tumoral, el tamaño, la invasividad, la afectación del NL, la metástasis, etc. De este modo, pueden evaluarse todos o alguno de los siguientes aspectos los efectos inhibidores de los puntos de control sobre la activación o proliferación de células T CD4+, la activación o proliferación de células T CD8+ (CTL), la actividad citotóxica mediada por células T CD8+ y/o el agotamiento celular mediado por CTL, la actividad de células NK y el agotamiento celular mediado por NK, los efectos potenciadores de los puntos de control sobre la diferenciación y proliferación de células Treg y la inmunosupresión o tolerancia inmunitaria mediada por células Treg o células supresoras mieloídes derivadas (MDSC), y/o los efectos de los puntos de control sobre la producción de citocinas proinflamatorias por células inmunitarias, p. ej., producción de IL-2, IFN-γ o TNF-α por células T u otras células inmunitarias.

50 En algunos casos, la evaluación del tratamiento se realiza evaluando la proliferación de células inmunitarias, utilizando, por ejemplo, el método de dilución CFSE, la tinción intracelular Ki67 de células efectoras inmunitarias y el método de incorporación de 3H-timidina,

55 En algunos casos, la evaluación del tratamiento se realiza evaluando el aumento de la expresión génica o el aumento de los niveles proteicos de marcadores asociados a la activación, incluyendo uno o más de: CD25, CD69, CD137, ICOS, PD1, GITR, OX40, y desgranulación celular medida por la expresión superficial de CD107A.

En general, los ensayos de expresión génica se realizan como se conoce en la técnica.

En general, las mediciones de la expresión de proteínas también se realizan de forma similar, como es conocido en la técnica.

5 En algunos casos, la evaluación del tratamiento se realiza evaluando la actividad citotóxica medida mediante la detección de la viabilidad de la célula diana a través de la estimación de numerosos parámetros celulares como la actividad enzimática (incluida la actividad proteasa), la permeabilidad de la membrana celular, la adherencia celular, la producción de ATP, la producción de coenzimas y la actividad de captación de nucleótidos. Algunos ejemplos específicos de estos ensayos incluyen, entre otros, la tinción con azul tripano o PI, el método de liberación de 51Cr o 35S, la actividad de LDH, los ensayos de MTT y/o WST, el ensayo Calcein-AM, el ensayo basado en luminiscencia, y otros.

10 15 En algunos casos, la evaluación del tratamiento se realiza evaluando la actividad de las células T medida por la producción de citocinas, medida intracelularmente en el sobrenadante de cultivo utilizando citocinas que incluyen, pero no se limitan a, IFNy, TNFa, GM-CSF, IL2, IL6, IL4, IL5, IL10, IL13 utilizando técnicas bien conocidas.

20 25 Por consiguiente, la evaluación del tratamiento puede realizarse mediante ensayos que evalúen uno o más de los siguientes aspectos: (i) aumentos en la respuesta inmunitaria, (ii) aumentos en la activación de células T $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$, (iii) aumentos en la actividad de células T citotóxicas, (iv) aumentos en la actividad de células NK y/o NKT, (v) alivio de la supresión de células T $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$, (vi) aumentos en la secreción de citocinas proinflamatorias, (vii) aumentos en la secreción de IL-2; (viii) aumenta la producción de interferón- γ , (ix) aumenta la respuesta Th1, (x) disminuye la respuesta Th2, (xi) disminuye o elimina el número de células y/o la actividad de al menos una de las células T reguladores (Tregs).

25 Ensayos para medir la eficacia

30 35 En algunos casos, la activación de las células T se evalúa mediante un ensayo de reacción linfocitaria mixta (MLR) como se conoce en la técnica. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

40 45 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la respuesta inmunitaria medidos, por ejemplo, por la fosforilación o desfosforilación de diferentes factores, o midiendo otras modificaciones postraduccionales. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

50 55 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide aumentos o disminuciones en la activación de células T $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$ según se mida, por ejemplo, por secreción de citocinas o por proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

60 65 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la actividad de células T citotóxicas medida, por ejemplo, por la destrucción directa de células diana como, por ejemplo, células cancerosas o por la secreción de citocinas o por la proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

70 75 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la actividad de las células NK y/o NKT medida, por ejemplo, por la destrucción directa de células diana como, por ejemplo, células cancerosas o por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD107a, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

80 85 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide aumentos o disminuciones en la supresión de células $\alpha\beta$ y/o $\gamma\delta$ T, medidos por ejemplo por secreción de citocinas o por proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como por ejemplo CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

90 95 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la secreción de citocinas proinflamatorias, por ejemplo mediante ELISA, Luminex, métodos multiplexados basados en microesferas, tinción intracelular y análisis FACS, Alispot, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

100 105 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la secreción de IL-2, por ejemplo, mediante ELISA o Luminex o métodos basados en microesferas Multiplex o tinción intracelular y análisis FACS o

Alispot, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

- 5 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la producción de interferón-γ, por ejemplo, mediante ELISA o Luminex o métodos basados en microesferas Multiplex o tinción intracelular y análisis FACS o Alispot, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 10 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la respuesta Th1, medidos, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 15 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la respuesta Th2, medidos, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 20 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución del número de células y/o la actividad de al menos una de las células T reguladoras (Tregs), según se mida, por ejemplo, por citometría de flujo o por IHC. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 25 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución del número de células de macrófagos M2, medido, por ejemplo, por citometría de flujo o por IHC. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 30 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la actividad protumorigénica de los macrófagos M2, medida, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 35 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones en el aumento de neutrófilos N2, medido, por ejemplo, por citometría de flujo o por IHC. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 40 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la actividad protumorigénica de los neutrófilos N2, medida, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 45 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide aumentos o disminuciones en la inhibición de la activación de células T, según se mida, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por la proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 50 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones en la inhibición de la activación de CTL según se mida, por ejemplo, mediante la destrucción directa de células diana como, por ejemplo, células cancerosas o mediante la secreción de citocinas o mediante la proliferación o mediante cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 55 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide aumentos o disminuciones en el agotamiento de células T αβ y/o γδ según se mide para un ejemplo por cambios en la expresión de marcadores de activación. Una disminución de la respuesta indica actividad inmunoestimuladora. Las disminuciones adecuadas son las mismas que para los aumentos, que se describen a continuación.
- 60 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones de la respuesta de las células T αβ y/o γδ según se mida, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por la proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD137, CD107a, PD1, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.
- 65 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones en la estimulación de las respuestas de memoria específicas de antígeno, medidas, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por la

proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD45RA, CCR7, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

5 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones en la apoptosis o lisis de células cancerosas según se mida, por ejemplo, mediante ensayos de citotoxicidad como, por ejemplo, MTT, liberación de Cr, Calcine AM, o mediante ensayos basados en citometría de flujo como, por ejemplo, dilución de CFSE o tinción con yoduro de propidio, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

10 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide los aumentos o disminuciones en la estimulación del efecto citotóxico o citostático sobre las células cancerosas, como se mide, por ejemplo, mediante ensayos de citotoxicidad como, por ejemplo, MTT, liberación de Cr, Calcine AM, o mediante ensayos basados en citometría de flujo como, por ejemplo, dilución de CFSE o tinción con yoduro de propidio, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

15 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la destrucción directa de células cancerosas, medida, por ejemplo, mediante ensayos de citotoxicidad, como MTT, liberación de Cr, Calcine AM, o mediante ensayos basados en citometría de flujo, como dilución de CFSE o tinción con yoduro de propidio, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

20 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide el aumento o la disminución de la actividad Th17, medida, por ejemplo, por la secreción de citocinas, la proliferación o los cambios en la expresión de marcadores de activación. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

25 En un caso, el ensayo de la vía de señalización mide aumentos o disminuciones en la inducción de citotoxicidad dependiente del complemento y/o citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, medida por ejemplo mediante ensayos de citotoxicidad como por ejemplo MTT, liberación de Cr, Calcine AM, o mediante ensayos basados en citometría de flujo como por ejemplo dilución de CFSE o tinción con yoduro de propidio, etc. Un aumento de la actividad indica actividad inmunoestimuladora. A continuación se describen los incrementos de actividad adecuados.

30 En un caso, la activación de las células T se mide, por ejemplo, por la destrucción directa de células diana, como por ejemplo células cancerosas, o por la secreción de citocinas, o por la proliferación, o por cambios en la expresión de marcadores de activación, como por ejemplo CD137, CD107a, PD1, etc. En el caso de las células T, el aumento de la proliferación, de los marcadores de activación de la superficie celular (por ejemplo, CD25, CD69, CD137, PD1), de la citotoxicidad (capacidad de destruir células diana) y de la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-6, IFN γ , TNF-a, IL-10, IL-17A) sería indicativo de una modulación inmunitaria coherente con una mayor destrucción de células cancerosas.

35 En un caso, la activación de las células NK se mide, por ejemplo, por la destrucción directa de células diana como, por ejemplo, células cancerosas, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación como, por ejemplo, CD107a, etc. En el caso de las células NK, el aumento de la proliferación, la citotoxicidad (capacidad de matar células diana y aumento de la expresión de CD107a, granzima y perforina), la producción de citocinas (por ejemplo, IFN γ y TNF) y la expresión de receptores de superficie celular (por ejemplo, CD25) serían indicativos de una modulación inmunitaria que sería coherente con una mayor destrucción de células cancerosas.

40 En un caso, la activación de células T y δ se mide, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por la proliferación o por cambios en la expresión de marcadores de activación.

45 En un caso, la activación de las células Th1 se mide, por ejemplo, por la secreción de citocinas o por cambios en la expresión de marcadores de activación.

50 Los aumentos apropiados de la actividad o respuesta (o disminuciones, según proceda como se ha indicado anteriormente), son aumentos del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 98 a 99 % sobre la señal en una muestra de referencia o en muestras de control, por ejemplo muestras de ensayo que no contienen un anticuerpo de la invención. Del mismo modo, los aumentos de al menos una, dos, tres, cuatro o cinco veces en comparación con las muestras de referencia o de control demuestran la eficacia.

60 X. Tratamientos

Una vez fabricadas, las composiciones de la invención encuentran uso en una serie de aplicaciones oncológicas, mediante el tratamiento del cáncer, generalmente inhibiendo la supresión de la activación de células T (por ejemplo, las células T dejan de estar suprimidos) con la unión de los anticuerpos biespecíficos contra puntos de control de la invención.

Por consiguiente, las composiciones heterodiméricas de la invención encuentran uso en el tratamiento de estos cánceres.

5 XI. Terapias de combinación

En algunos casos, cuando el punto de control biespecífico no incluye un dominio de unión a antígeno anti-PD-1, el anticuerpo biespecífico puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1 separado, como pembrolizumab (Keytruda®) o nivolumab (Opdivo®). La coadministración puede hacerse simultánea o secuencialmente, como apreciarán los expertos en la materia.

10 Es decir, un anticuerpo biespecífico contra el punto de control CTLA-4 X LAG-3 descrito en la presente memoria, o como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-LAG-3 y secuencias anti-CTLA-4 del listado de secuencias, y en particular XENP22602, XENP 22675, XENP22841 o XENP 22843, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

15 Del mismo modo, un punto de control biespecífico BTLA X CTLA-4 descrito en la presente memoria, o como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-BTLA y secuencias anti-CTLA-4 del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

20 Un anticuerpo de punto de control biespecífico CTLA-4 X TIM-3, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-TIM-3 y secuencias anti-CTLA-4 del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

25 Un anticuerpo biespecífico contra puntos de control CTLA-4 y TIGIT, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-CTLA-4 y anti-TIGIT del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

30 Un anticuerpo biespecífico de punto de control TIM-3 y LAG-3, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-TIM-3 y secuencias anti-LAG-3 del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

35 Un anticuerpo biespecífico contra puntos de control TIM-3 y BTLA, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-TIM-3 y anti-BTLA del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

40 Un anticuerpo biespecífico de punto de control LAG-3 y TIGIT, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-LAG-3 y secuencias anti-TIGIT del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

45 Un anticuerpo biespecífico de punto de control LAG-3 y BTLA, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-LAG-3 y secuencias anti-BTLA del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

50 Un anticuerpo de punto de control biespecífico TIGIT y BTLA, como cualquiera de los que incorporan secuencias anti-TIGIT y secuencias anti-BTLA del listado de secuencias, puede coadministrarse con un anticuerpo anti-PD-1.

45 XII. Composiciones de anticuerpos para la administración *in vivo*

55 Las formulaciones de los anticuerpos utilizados según la presente descripción se preparan para su almacenamiento mezclando un anticuerpo que tenga el grado de pureza deseado con portadores, excipientes o estabilizadores opcionales farmacéuticamente aceptables (como se indica en general en Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores, tampones, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones como el fosfato, el citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes como el ácido ascórbico y la metionina; conservantes (como el cloruro de octadecildimetilbencilmonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos, como el metilparabeno o el propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, como la albúmina sérica, la gelatina o las inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos como la polivinilpirrolidona; aminoácidos como la glicina, la glutamina, la asparagina, la histidina, la arginina o la lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono como la glucosa, la manosa o las dextrinas; agentes quelantes como el EDTA; azúcares como la sacarosa, el manitol, la trehalosa o el sorbitol; contraiones formadores de sal, como el sodio; complejos metálicos (p. ej., complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenenglicol (PEG).

60 Realizaciones de administración

65 Los anticuerpos y agentes quimioterapéuticos de la descripción se administran a un sujeto, según métodos conocidos, como la administración intravenosa en forma de bolo o mediante infusión continua durante un periodo de tiempo.

Realizaciones de tratamiento

- En los métodos de la descripción, el agente terapéutico se utiliza para proporcionar una respuesta terapéutica positiva con respecto a una enfermedad o afección. Por "respuesta terapéutica positiva" se entiende una mejora de la enfermedad o afección y/o una mejora de los síntomas asociados a la enfermedad o afección. Por ejemplo, una respuesta terapéutica positiva se referiría a una o más de las siguientes mejoras en la enfermedad: (1) una reducción del número de células neoplásicas; (2) un aumento de la muerte de las células neoplásicas; (3) inhibición de la supervivencia de las células neoplásicas; (5) inhibición (es decir, ralentización hasta cierto punto, preferiblemente detención) del crecimiento tumoral; (6) una mayor tasa de supervivencia de los pacientes; y (7) cierto alivio de uno o más síntomas asociados a la enfermedad o afección.
- Las respuestas terapéuticas positivas en cualquier enfermedad o afección dada pueden determinarse mediante los criterios de respuesta estandarizados específicos para esa enfermedad o afección. La respuesta del tumor puede evaluarse para detectar los cambios en la morfología del tumor (es decir, la carga tumoral general, el tamaño del tumor y similares) al utilizar técnicas de detección como la exploración por imágenes de resonancia magnética (MRI), la exploración por imágenes radiográficas, la tomografía computarizada (CT), la exploración ósea por imágenes, endoscopia y toma de muestras de biopsia tumoral, que incluye la aspiración de la médula ósea (BMA) y el recuento de células tumorales en la circulación.
- Además de estas respuestas terapéuticas positivas, el sujeto sometido a terapia puede experimentar el efecto beneficioso de una mejora en los síntomas asociados a la enfermedad.
- El tratamiento según la presente descripción incluye una "cantidad terapéuticamente eficaz" de los medicamentos utilizados. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado terapéutico deseado.
- Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de los medicamentos para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también aquella en la que los efectos terapéuticamente beneficiosos superan los efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo o la porción de anticuerpo.
- Una "cantidad terapéuticamente eficaz" para la terapia tumoral también puede medirse por su capacidad para estabilizar la progresión de la enfermedad. La capacidad de un compuesto para inhibir el cáncer puede evaluarse en un sistema de modelo animal predictivo de la eficacia en los tumores humanos.
- Alternativamente, esta propiedad de una composición puede evaluarse al examinar la capacidad del compuesto para inhibir el crecimiento celular o para inducir la apoptosis mediante ensayos *in vitro* conocidos por el médico experto. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto terapéutico puede disminuir el tamaño del tumor o mejorar de otro modo los síntomas en un sujeto. Un experto en la materia sería capaz de determinar tales cantidades en base a factores tales como el tamaño del sujeto, la gravedad de los síntomas del sujeto y la composición particular o vía de administración seleccionada.
- Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica). Por ejemplo, puede administrarse un solo bolo, pueden administrarse varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Las composiciones parenterales pueden formularse en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma farmacéutica utilizada en la presente memoria se refiere a unidades físicas individuales adecuadas como dosis unitarias para los sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido.
- La especificación de las formas unitarias de dosificación de la presente invención está dictada y depende directamente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se va a lograr, y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de combinar tal compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad de los individuos.
- Las dosis eficaces y las pautas posológicas para los anticuerpos multiespecíficos usados en la presente invención dependen de la enfermedad o afección a tratar y pueden determinarse por los expertos en la técnica.
- Un intervalo ilustrativo y no limitativo para una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico utilizado en la presente invención es de aproximadamente 0,1-100 mg/kg.

Ejemplos

65

La invención se define en las reivindicaciones. Cualquiera de los siguientes ejemplos que no estén comprendidos en el ámbito de las reivindicaciones no forman parte de la invención y se proporcionan únicamente a efectos comparativos.

- 5 A continuación se proporcionan ejemplos para ilustrar la presente invención.

Para todas las posiciones de las regiones constantes analizadas en la presente invención, la numeración se realiza según el índice EU como en Kabat (Kabat y col, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.^a Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda). Los expertos en la técnica de los anticuerpos 10 apreciarán que esta convención consiste en una numeración no secuencial en regiones específicas de una secuencia de inmunoglobulina, lo que permite una referencia normalizada a las posiciones conservadas en las familias de inmunoglobulinas. Por consiguiente, las posiciones de cualquier inmunoglobulina determinada tal como se define por el índice EU no corresponderán necesariamente a su secuencia secuencial.

- 15 Las técnicas científicas generales y específicas se describen en las publicaciones estadounidenses 2015/0307629, 2014/0288275 y WO2014/145806.

A. Ejemplo 1: Los TIL de múltiples tipos de cáncer coexpresan receptores de puntos de control inmunitarios

20 Para investigar las posibles asociaciones entre PD-1, CTLA-4, LAG-3 y BTLA, se utilizaron para el análisis los datos de secuenciación de ARN del proyecto The Cancer Genome Atlas (TCGA). Los datos RSEM V2 se descargaron de FireBrowse (<http://firebrowse.org/>). El análisis se realizó utilizando R con rutinas personalizadas. La correlación entre la expresión de PD-1 y CTLA-4 se representa en la figura 66, junto con los valores de R² calculados (figura 1; cuadrado del coeficiente de correlación de Pearson). La figura 66 muestra además la correlación entre la expresión de PD-1 y 25 LAG-3, la expresión de PD-1 y BTLA, y la expresión de LAG-3 y CTLA-4.

30 La figura 44 muestra que los conjuntos de PD-1 y CTLA-4 se coexpresaron en cánceres como los de vejiga, mama, colon, próstata, melanoma, ovario y pulmón, muestra que los conjuntos PD-1 y CTLA-4, PD-1 y LAG-3, PD-1 y BTLA, y LAG-3 y CTLA-4 se coexpresaron en cánceres como los de vejiga, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma epidermoide de pulmón, ovario, páncreas, próstata y melanoma.

B. Ejemplo 2: Los anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios son superiores a los monoespecíficos

35 Se produjeron prototipos de anticuerpos contra puntos de control inmunitarios (por ejemplo, nivolumab e ipilimumab) y anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios basados en los anticuerpos prototipo para demostrar el efecto de los bloqueos duales de puntos de control. A menos que se indique lo contrario, los biespecíficos se denominan en la presente memoria utilizando la región variable Fab en primer lugar y la región variable scFv en segundo lugar. Las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos prototipo figuran en el listado de secuencias. El 40 ADN que codifica las cadenas pesada y ligera se generó mediante síntesis génica (Blue Heron Biotechnology, Bothell, Wash.), se subclonó utilizando técnicas estándar de biología molecular en el vector de expresión pTT5 que contiene regiones constantes bivalentes o biespecíficas y se transfeció transitoriamente en células HEK293E. Los anticuerpos se purificaron mediante cromatografía de proteína A (y cromatografía de intercambio catiónico para los anticuerpos biespecíficos). La pureza se evaluó mediante cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía analítica de 45 intercambio catiónico e isoelectroenfoque capilar.

1. Las células doblemente positivas son ocupadas selectivamente por anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios

50 La selección de células TIL reactivas al tumor que expresan múltiples receptores de puntos de control inmunitarios (como se muestra en el ejemplo 1) frente a células T no reactivas al tumor que expresan receptores de puntos de control inmunitarios únicos podría mejorar la actividad antitumoral y evitar la toxicidad periférica (como se muestra en la figura 42).

55 Se utilizó un ensayo con PBMC estimuladas con SEB para investigar la unión de los anticuerpos biespecíficos de punto de control inmunitario contra células T. El ensayo con PBMC estimuladas con SEB es un método *in vitro* para evaluar la proliferación de células T colaboradoras (TH) y para generar una población de linfocitos T citotóxicos (CTL). Cuando las PBMC se estimulan con enterotoxina estafilocócica B (SEB), las poblaciones de células TH se expanden, seguidas por la expansión de una población de CTL. Las PBMC se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 3 días 60 y luego se trataron con un prototipo de anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-PD-1 y un control negativo (Numax bivalente) durante 30 minutos a 4 °C. Tras el tratamiento, las células se incubaron con anticuerpo anti-LAG-3 de un brazo marcado con APC, anticuerpo anti-PD-1 de un brazo marcado con FITC y anticuerpo anti-CD3 marcado con BV605 durante 30 minutos a 4 °C. En la figura 67 se muestran gráficos de dispersión de las células T CD3⁺. Los datos muestran que las células doblemente positivas que expresan tanto PD-1 como LAG-3 son ocupadas selectivamente 65 por el biespecífico anti-LAG-3 x anti-PD-1, lo que demuestra que los anticuerpos biespecíficos de punto de control inmunitario se dirigen selectivamente a las células T que expresan múltiples receptores de punto de control.

2. Anti-CTLA-4 x anti-PD-1 biespecífico mejora la respuesta de IL-2 en una reacción linfocitaria mixta

Los prototipos de anticuerpos de punto de control inmunitario XENP16432 (nivolumab) y XENP16433 (ipilimumab), el anticuerpo de punto de control inmunitario biespecífico XENP16004 basado en nivolumab e ipilimumab, y un control de combinación de un brazo (monoespécifico, monovalente) se probaron en una reacción de linfocitos mixtos (también conocida como reacción de leucocitos mixtos o MLR). La MLR es otro método *in vitro* para evaluar la proliferación de células T colaboradoras (TH) y para generar una población de linfocitos T citotóxicos (CTL). Cuando se cultivan conjuntamente linfocitos alogénicos (de diferente haplotipo MHC), se produce una expansión de las poblaciones de células TH, seguida de la expansión de una población de CTL. La secreción de interleucina-2 (IL-2) se utilizó para supervisar la activación de las células T.

Se purificaron diferentes conjuntos de PBMC humanas procedentes de leucaféresis de diferentes voluntarios sanos anónimos (HemaCare, VanNuys, CA) utilizando gradientes de densidad Ficoll-Paque™ Plus. Se mezclaron PBMC de dos donantes y se trataron con 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados. Se recogió el sobrenadante y se midió la concentración de IL-2 utilizando un ELISA de IL-2 y los datos se muestran en representación de algunas pruebas de detección de Fab anti-CTLA-4. Esto representa el código XENP para las realizaciones de Fab y scFv, la designación de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD contra CTLA-4 humano y cyno medida por Octet, y la Tm del scFv y Fab. Además, el número de secuencias de 9 unidades monoméricas que coincidían exactamente con al menos una línea germinal de VH o VL humana se representa como una medida de humanidad para las regiones variables tanto de los Fab como de los scFv.

Figura 25A. Para cada columna, cada punto de datos es una reacción separada con una combinación donante-donante diferente.

Los datos muestran que el prototipo de anticuerpo biespecífico anti-PD-1 x anti-CTLA-4 potenció la respuesta a IL-2 en mayor medida que nivolumab e ipilimumab solos. En particular, la combinación de un brazo (cada brazo monovalente del biespecífico añadido por separado) es inferior al biespecífico anti-PD-1 x anti-CTLA-4, lo que sugiere una unión más ávida del biespecífico a las células PD-1+CTLA-4+ doblemente positivas, lo que concuerda con el hallazgo descrito en la figura 67 para un anticuerpo biespecífico anti-LAG-3 x anti-PD-1.

3. Anticuerpos de punto de control inmunitario biespecíficos adicionales mejoran la respuesta de IL-2 en una reacción linfocitaria mixta

Se probaron otros prototipos de anticuerpos contra puntos de control inmunitarios y anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios dirigidos contra otros receptores de puntos de control inmunitarios en un ensayo de MLR como el descrito anteriormente. Se crearon dos conjuntos de MLR en los que 20 donantes se dirigían a 1 donante receptor y otro conjunto de 20 donantes se dirigían a otro donante receptor, con un total de 40 reacciones de MLR. Las reacciones se incubaron con 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados durante 6 días. En la figura 32 se muestran los datos que representan el aumento de veces de IL-2 e IFNγ (ensayados mediante ELISA) tras el tratamiento con los artículos de ensayo indicados en comparación con el tratamiento con anti-PD-1 bivalente (XENP16432). Los datos muestran que los anticuerpos de punto de control inmunitario biespecíficos adicionales también fueron superiores al nivolumab solo en la activación de las células T.

4. Triple bloqueo de puntos de control inmunitarios: los anticuerpos bivalentes anti-PD-1 y biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 son sinérgicos en la potenciación de la respuesta IL-2 en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB.

Se planteó la hipótesis de que un triple bloqueo de los puntos de control inmunitarios, por ejemplo con un anti-PD-1 bivalente y un anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 biespecífico, como se muestra en la figura 43, proporcionaría un beneficio adicional en la mejora de la activación de las células T. Para comprobar la hipótesis, se probaron los prototipos de anticuerpos de punto de control inmunitario XENP16432 (nivolumab), el prototipo de anticuerpo biespecífico de punto de control inmunitario anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 XENP16430 basado en 25F7 e ipilimumab, y una combinación de XENP16432 y XENP16430 en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB.

Se estimularon PBMC humanas de múltiples donantes con 10 ng/ml de SEB durante 72 h con 20 µg/ml de los artículos de prueba indicados. Tras el tratamiento, los sobrenadantes celulares se analizaron para IL-2 mediante ELISA. Los datos se muestran en la figura 33 para el aumento de veces de IL-2 sobre Numax bivalente. Cada punto indica un donante representado en singlete técnico.

Los datos muestran que el anticuerpo de punto de control biespecífico anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 (XENP16430) por sí solo mejoró la respuesta de IL-2 en relación con el control (Numax bivalente), aunque la mejora es menor que con nivolumab (XENP 16432) por sí solo. Sin embargo, el biespecífico anti-CTLA-4 x anti-LAG-3 en combinación con nivolumab conduce a una respuesta a IL-2 significativamente mayor que cualquiera de los dos por separado.

5. El bloqueo de la interacción receptor/ligando del punto de control es necesario para la activación de las células T

Se analizó la capacidad de los anticuerpos prototipo anti-BTLA 4A7, E8D9 y 8D5 para bloquear la interacción de BTLA con su ligando HVEM utilizando Octet, un método basado en interferometría de biocapas (BLI). Las etapas experimentales para Octet generalmente incluían lo siguiente: Inmovilización (captura del ligando o del artículo de prueba en un biosensor); Asociación (inmersión de biosensores recubiertos de ligando o artículo de ensayo en pocillos que contienen diluciones seriadas del correspondiente artículo de ensayo o ligando); y Disociación (retorno de los biosensores al pocillo que contiene tampón) para determinar la afinidad monovalente de los artículos de prueba. También se incluyó en el método un pocillo de referencia que solo contenía tampón para la corrección del fondo durante el procesamiento de los datos. Se incubaron 500 nM de cada anticuerpo anti-BTLA y 100 nM de BTLA-Fc durante más de una hora. Se utilizaron biosensores anti-Penta-HIS (HIS 1K) para capturar HVEM-Fc-His y luego se sumergieron en la mezcla anticuerpo/BTLA para medir la unión residual BTLA/HVEM. Como se muestra en la figura 35B, 8D5 no bloqueó la interacción BTLA/HVEM mientras que 4A7 y E8D9 bloquearon la interacción BTLA/HVEM.

Los anticuerpos prototipo anti-BTLA y los anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 con brazos Fab anti-BTLA basados en los anticuerpos prototipo se probaron en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB. Concretamente, las PBMC humanas se estimularon con 20 ng/ml de SEB durante 72 horas con 20 µg/ml de los artículos de prueba indicados. Tras el tratamiento, el sobrenadante celular se analizó para IL-2 mediante ELISA. Los datos se muestran en la figura 35A para el aumento de veces de IL-2 sobre Numax bivalente (cada punto representa un donante individual de PBMC probado en singlete). Los datos muestran que el anticuerpo biespecífico con el brazo Fab 8D5 anti-BTLA no bloqueante indujo IL-2 significativamente menos que el nivolumab, lo que indica que el bloqueo de la interacción BTLA/HVEM es necesario para potenciar la activación de las células T.

6. Anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios mejoran el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas

25 Se evaluaron anticuerpos biespecíficos contra puntos de control en un modelo de enfermedad de injerto contra hospedador (EICH) realizado en ratones immunodeficientes NSG (NOD-SCID-gamma). Cuando los ratones NSG fueron inyectados con PBMC humanas, éstas desarrollaron una respuesta autoinmune contra las células de ratón. El tratamiento de ratones NSG inyectados con PBMC humanas seguido del tratamiento con inhibidores del punto de control inmunitario deprime las células T injertadas y mejora el injerto.

30 Se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP el día 0 seguido de la dosificación con los artículos de ensayo indicados (5 mg/kg o según se indique) el día 1. Los eventos CD45+ se midieron el día 14 (figura 34). Si bien la EICH puede medirse directamente, el aumento de los niveles de células CD45+ se correlaciona con la disminución del peso corporal (representan una reacción linfocitaria mixta que busca potenciar la liberación de IL-2 mediante nivolumab (anticuerpo monoclonal anti-PD-1, comercializado como Opdivo®) solo, ipilimumab solo (anticuerpo monoclonal antiCTLA-4, comercializado como Yervoy®), un prototipo biespecífico antiCTLA-4 x anti-PD-1 basado en los brazos de nivolumab e ipilimumab, y un control combinado de “un brazo”.

Figura 26B) y son predictivos de la enfermedad.

40 Los datos muestran que los anticuerpos de punto de control biespecíficos de la invención aumentan la proliferación de células CD45+ en ratones NSG injertados con PBMC humanas en comparación con el control (PBS + PBMC). Además, la mejora es mayor utilizando anticuerpos de la invención que la observada con nivolumab (XENP16432) solo. Además, el biespecífico anti-CTLA-4 x anti-LAG-3 (XENP16430) en combinación con nivolumab produjo los mayores niveles de injerto, en consonancia con los datos del ejemplo 2D.

C. Ejemplo 3: Híbridomas

1. Generación de híbridomas

50 Para desarrollar los brazos de direccionamiento a PD-1, LAG-3 y BTLA para los anticuerpos de punto de control inmunitario biespecíficos de la invención, primero se generaron anticuerpos monoclonales mediante tecnología de híbridoma a través de ImmunoPrecise, ya fuera mediante su Método Estándar o el método Rapid Prime.

55 Para el método estándar, se inyectó antígeno(s) en 3 ratones BALB/c. 7-10 días antes de ser sacrificados para la generación del híbridoma, los ratones inmunizados recibieron un refuerzo de antígeno. El título de anticuerpos se evalúa mediante ELISA sobre el antígeno y los ratones que mejor responden se eligen para la fusión. Se administra un último refuerzo de antígeno 4 días antes de la fusión. Los linfocitos de los ratones se agrupan, se purifican y, a continuación, se fusionan con células de mieloma SP2/0. Las células fusionadas se cultivan en medios de clonación Single-Step selectivos para HAT durante 10-12 días, momento en el que los híbridomas estaban listos para el cribado.

60 Para el método Rapid Prime, se inyectó antígeno(s) en 3 ratones BALB/c. Al cabo de 19 días, se agrupan los linfocitos de todos los ratones, se purifican y se fusionan con células de mieloma SP2/0. Las células fusionadas se cultivan en medios de clonación Single-Step selectivos para HAT durante 10-12 días, momento en el que los híbridomas estaban listos para el cribado.

Para la generación de hibridomas anti-PD-1, se utilizaron los métodos estándar y Rapid Prime y los antígenos utilizados fueron la fusión Fc de ratón de PD-1 humana (huPD-1-mFc), la fusión Fc de ratón de PD-1 de macaco (cynoPD-1-mFc), PD-1 humana marcada con His (huPD-1-His), PD-1 de macaco marcada con His (cynoPD-1-His) o mezclas de los mismos.

- 5 Para la generación de hibridomas anti-BTLA, se utilizaron los métodos estándar y Rapid Prime y los antígenos utilizados fueron fusión Fc de ratón de BTLA humana (huBTLA-mFc), fusión Fc de ratón de BTLA de macaco (cynoBTLA-mFc), BTLA humana marcada con His (huBTLA-His), o mezcla de huBTLA-mFc y cynoBTLA-mFc.
- 10 Para la generación de hibridomas anti-LAG-3, se utilizó el método Rapid Prime y los antígenos utilizados fueron fusión Fc de ratón de LAG-3 humano (huLAG-3-mFc), fusión Fc de ratón de LAG-3 de macaco (cynoLAG-3-mFc), LAG-3 humano marcado con His (huLAG-3-His), mezcla de huLAG-3-mFc y cynoLAG-3-mFc, o mezcla huLAG-3-His y cynoLAG-3-His.
- 15 Para la generación de hibridomas anti-TIM-3, se utilizaron los métodos estándar y Rapid Prime y los antígenos utilizados fueron la fusión Fc de ratón de TIM-3 humano (huTIM-3-mFc), la fusión Fc de ratón de TIM-3 de macaco (cynoTIM-3-mFc), TIM-3 humano marcado con His (huTIM-3-His), cyno TIM-3 marcado con His (cynoTIM-3-His) o mezclas de los mismos.

20 2. Cribado de clones de hibridoma anti-PD-1

Los clones de hibridoma anti-PD-1 generados como se ha descrito anteriormente se sometieron a dos rondas de cribado utilizando Octet. Para la primera ronda, se utilizaron biosensores Fc anti-ratón (AMC) para capturar los clones con inmersiones en 500 nM de PD-1-Fc-His bivalente de humano y macaco. Para la segunda ronda, los clones identificados en la primera ronda que fueron positivos tanto para PD-1 humana como para PD-1 de macaco se capturaron en biosensores AMC y se sumergieron en 500 nM de PD-1-His humana y PD-1 de macaco monovalente. Las secuencias de anticuerpos anti-PD-1 ilustrativos se encuentran en el listado de secuencias.

3. Cribado de clones de hibridoma anti-BTLA

30 Los clones de hibridoma anti-BTLA generados como se ha descrito anteriormente se sometieron a dos rondas de cribado utilizando Octet. Para la primera ronda, se utilizaron biosensores AMC para capturar los clones con inmersiones en múltiples concentraciones de BTLA-His humana y de macaco para determinar la KD. Para la segunda ronda, se utilizó un ensayo de bloqueo para identificar los clones que bloqueaban la interacción BTLA/HVEM. Se utilizaron biosensores anti-Penta-HIS (HIS1K) para capturar HVEM-Fc-His y se sumergieron en BTLA-Fc 25 nM solo o BTLA-Fc 25 nM + dilución 1:1 de muestras de hibridoma para medir la unión BTLA/HVEM residual. Las secuencias de anticuerpos anti-BTLA ilustrativos se encuentran en el listado de secuencias.

40 4. Cribado de clones de hibridoma anti-LAG-3

40 Los clones de hibridoma anti-LAG-3 generados como se ha descrito anteriormente se sometieron a varias rondas de cribado para identificar clones con alta afinidad, que bloquearan la unión de LAG-3 a células Ramos que expresan de forma endógena MHC-II, y que se unieran a un epítopo diferente del mAb 25F7.

45 La afinidad se determinó utilizando Octet. Se utilizaron biosensores AMC para capturar clones con inmersiones en concentraciones únicas de LAG-3 humano-Fc y LAG-3 de macaco-Fc. Para identificar los clones que bloquean la interacción LAG-3/MHC-II, se mezcló 1 µg de LAG-3-hIg humano en 10 µl con 50 µl de sobrenadante de hibridoma (diluido a 1:2 veces, 8 veces en medio RPMI con FBS al 10 %) durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 40 µl de células Daudi o Ramos (que expresan endógenamente MHC-II) y se incubaron a 4 °C durante 50 30 minutos. A continuación, se lavaron las células y se incubaron con el anticuerpo secundario anti-Fc-Alexa647 humano durante 30 minutos. A continuación, se lavaron las células y se analizaron mediante FACS para Alexa647. Los datos se muestran en la figura 62. Para identificar clones que se unen a un epítopo diferente del mAb 25F7, se utilizaron biosensores AMC para capturar clones con inmersiones en LAG-3-hFc humano 100 nM o LAG-3-hFc 100 nM con 25F7 500 nM para medir la unión residual. Las secuencias de anticuerpos anti-LAG-3 ilustrativos se encuentran en el listado de secuencias.

55 5. Cribado de clones de hibridoma anti-TIM-3

60 Los clones de hibridoma anti-TIM-3 generados como se ha descrito anteriormente se sometieron a dos rondas de cribado. La primera ronda se dividió en cribas de muestras de IgG y clones de IgM. Para los clones de IgG, se utilizaron biosensores AMC para capturar los clones y se sumergieron en múltiples concentraciones de TIM-3-His humano y de macaco. Para los clones de IgM, los mAb anti-IgM se acoplaron utilizando AR2G en biosensores que se sumergieron en múltiples concentraciones de TIM-3-His humano y de macaco. Ninguna de las muestras de IgM produjo señales de unión superiores a los de referencia. Tras la primera ronda de cribado, los clones de IgG que se unían tanto a TIM-65 3 humano como de macaco se volvieron a cribar con versiones bivalentes de TIM-3-Fc humano y de macaco bivalentes. Las secuencias de anticuerpos anti-TIM-3 ilustrativos se encuentran en el listado de secuencias.

Varios de los clones se quimerizaron y se evaluó su unión a células T en un ensayo con PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC humanas se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 3 días. Tras la estimulación, las células se trataron con los artículos de ensayo indicados durante 30 minutos a 4 grados. La unión a células CD3⁺ se detectó con un anticuerpo secundario anti-Fc humano y se representa en la figura 21.

- 5 6. Los dominios de anticuerpos componentes derivados de hibridomas bloquean las interacciones receptor/ligando del punto de control
- 10 10 Como se describe en el ejemplo 2E, el bloqueo de la interacción receptor/ligando del punto de control es necesario para la activación de las células T. La capacidad de bloqueo de anticuerpos ilustrativos que comprenden dominios derivados de hibridomas se investigó utilizando ensayos de unión celular u Octet como se representa en los gráficos que muestran que los dominios de anticuerpos componentes de los anticuerpos sujetos proporcionados en la presente memoria son capaces de bloquear las interacciones receptor/ligando de punto de control. En particular, un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo 1G6 scFv anti-PD-1 es capaz de bloquear las interacciones PD-1/PD-L1 y PD-1/PD-L2; un brazo 7G8 anti-LAG-3 es capaz de bloquear la interacción LAG-3/MHC II; un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo Fab anti-PD-1 ilustrativo es capaz de bloquear las interacciones CTLA-4/CD80 y CTLA-4/CD86; y un anticuerpo biespecífico que comprende un brazo Fab 9C6 anti-BTLA es capaz de bloquear la interacción BTLA/HVEM.
- 15 20 Figura 68.

25 La incubación de HEK293T que expresan PD-1 de forma exógena con XENP20717 impidió la unión de PD-L1 y PD-L2 a PD-1 de forma dependiente de la dosis. La incubación de LAG-3 con XENP22606 impidió su unión a las células Daudi que expresan MHC-II de forma endógena. La incubación de CTLA-4 con XENP20066 impidió la unión residual a CD80 y CD86. La incubación de BTLA con XENP20895 impidió la unión residual a HVEM.

- 30 D. Ejemplo 4: Optimización de la afinidad y la estabilidad
- 35 1. mAb Anti-PD-1 1G6 y 2E9

40 Los clones de hibridoma anti-PD-1 1G6 y 2E9 generados en el ejemplo 3 se diseñaron para tener afinidad y estabilidad óptimas en el contexto de scFv o Fab para su uso en un inhibidor de punto de control inmunitario biespecífico. Los clones se humanizaron primero mediante la optimización del contenido de cadenas (véase, p. ej., la patente estadounidense n.º 7.657.380, publicada el 2 de febrero de 2010). El ADN que codifica las cadenas pesada y ligera se generó mediante síntesis genética (Blue Heron Biotechnology, Bothell, Wash.) y se subclonó utilizando técnicas estándar de biología molecular en el vector de expresión pTT5. El carboxiloterminal del scFv incluía una etiqueta de polihistidina. Se construyó una biblioteca de variantes de Fv mediante mutagénesis estándar (QuikChange, Stratagene, Cedar Creek, Tx.) en los formatos bivalente de longitud completa, Fab-His y/o scFv-His. Los mAb bivalentes se purificaron mediante cromatografía estándar de proteína A y los Fab-His y scFv-His se purificaron mediante cromatografía de Ni-NTA. Las secuencias de anticuerpos bivalentes 1G6 y 2E9 ilustrativos, Fab y scFv de la invención se enumeran en el listado de secuencias (aunque se han eliminado las etiquetas de polihistidina para los Fab y scFv). Tras el cribado inicial, se hicieron combinaciones de variantes de interés, que se expresaron, purificaron y volvieron a examinar en cuanto a afinidad y estabilidad.

45 50 Se realizaron cribados de afinidad de anticuerpos bivalentes utilizando Octet. Se utilizaron biosensores de Fc antihumano (AHC) para capturar los artículos de prueba y se sumergieron en múltiples concentraciones de PD-1-His para la determinación de la KD. La estabilidad de los scFv-His se evaluó mediante fluorimetría diferencial de barrido (DSF). Los experimentos de DSF se realizaron al utilizar un sistema de detección de PCR en tiempo real Bio-Rad CFX Connect. Las proteínas se mezclaron con el colorante fluorescente SYPRO Orange y se diluyeron a 0,2 mg/ml en PBS. La concentración final de SYPRO Orange fue 10X. Tras un período inicial de incubación de 10 minutos a 25 °C, las proteínas se calentaron de 25 a 95 °C utilizando una velocidad de calentamiento de 1 °C/min. Se realizó una medición de fluorescencia cada 30 segundos. Las temperaturas de fusión (T_m) se calcularon utilizando el software del instrumento. Los resultados de afinidad y estabilidad se muestran en la figura 23.

- 55 55 2. mAb anti-CTLA-4

60 La región variable original de un anticuerpo anti-CTLA-4 se diseñó para su uso como componente de varios biespecíficos. Se adoptaron dos estrategias para intentar identificar variantes con propiedades mejoradas: (1) se realizaron sustituciones simples, dobles y triples de aminoácidos mediante mutagénesis QuikChange (Stratagene, Cedar Creek, Tx.), y (2) se construyeron secuencias reinjertadas con su marco intercambiado con líneas germinales humanas alternativas (IGHV3-7, IGHV3-13, IGHV3-21, IGHV3-64, IGKV3D-20, IGKV3-15) mediante síntesis de ADN y subclonación. Se diseñaron, expresaron y purificaron variantes de Fab y scFv. Las afinidades para CTLA-4 humano y de macaco se midieron para Fab utilizando Octet. Se utilizaron biosensores AHC para capturar fusiones Fc de CTLA-4 humano o macaco y se sumergieron en múltiples concentraciones de artículos de prueba de Fab para la determinación de la KD. Las estabilidades térmicas se midieron tanto para Fab como para scFv utilizando DSF.

Además, se contó el número de secuencias de 9 unidades de monómero que coincidían exactamente con al menos una línea germinal VH o VL humana como medida de humanidad (véase, p. ej., la patente estadounidense n.º 7.657.380, publicada el 2 de febrero de 2010) para las regiones variables tanto de Fab como de scFv. Tras el cribado inicial, se hicieron combinaciones de variantes de interés, que se expresaron, purificaron y volvieron a examinar en cuanto a afinidad y estabilidad. Los resultados se resumen en la figura 24. Varias variantes poseían una mayor estabilidad térmica que la región variable original, al tiempo que mantenían una afinidad similar por CTLA-4 humano y de macaco. Además, para varias variantes se identificaron aumentos en la humanidad de la secuencia, medida por el número de secuencias de 9 monómeros coincidentes con la línea germinal humana. Las variantes preferidas son: H0.25_L0, H0.26_L0, H0.27_L0, H0.29_L0, H0.38_L0, H0.39_L0, H0.40_L0, H0.70_L0, H0_L0.22, H2_L0, H3_L0, H3_L0.22, H3_L0.67, H3_L0.74, H3_L0.44, H3.4_L0.118, H3.4_L0.119, H3.4_L0.120, H3.4_L0.121, H3.4_L0.122, H3.4_L0.123, H3.4_L0.124, H3.4_L0.125, H3.4_L0.126, H3.4_L0.127, H3.4_L0.128, H3.4_L0.129, H3.4_L0.130, H3.4_L0.131, H3.4_L0.132, H3.5_L2.1, H3.5_L2.2, H3.5_L2.3, H3.21_L0.124, H3.21_L0.129, H3.21_L0.132, H3.23_L0.124, H3.23_L0.129, H3.23_L0.132, H3.25_L0.124, H3.25_L0.129, y H3.25_L0.132.

15 3. mAb 9C6 anti-BTLA

El clon de hibridoma anti-BTLA 9C6 generado en el ejemplo 3 se humanizó y diseñó para tener afinidad y estabilidad óptimas en formato de anticuerpo bivalente como se describe en general anteriormente en el ejemplo 4A. Las secuencias para anticuerpos bivalentes anti-BTLA ilustrativos de la invención se enumeran en el listado de secuencias.

20 Se realizaron cribados de afinidad para los anticuerpos bivalentes variantes utilizando Octet. Se utilizaron biosensores AHC para capturar los artículos de prueba y se sumergieron en pocillos con múltiples concentraciones de BTLA-His para la determinación de KD (en A y B se muestra que el biespecífico químérico anti-BTLA x anti-PD-1 promueve la secreción de IFNy a partir de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC se estimularon con 10 ng/ml de SEB durante 3 días con los artículos de prueba indicados. Se recogieron los sobrenadantes celulares y se analizaron con MSD para el analito indicado. A: 20 µg/ml de artículo de prueba; B 5 µg/ml de artículo de prueba.

Figura 52).

30 4. MAb Anti-LAG-3 7G8 y 2A11

Los clones de hibridoma anti-LAG-3 7G8 y 2A11 generados en el ejemplo 3 se humanizaron y diseñaron para tener afinidad y estabilidad óptimas en el contexto de un Fab para su uso en un inhibidor de punto de control inmunitario biespecífico como se describe en general anteriormente en el ejemplo 4A. Las secuencias de anticuerpos bivalentes anti-LAG-3 ilustrativos y Fab de la invención se enumeran en el listado de secuencias.

35 La afinidad y estabilidad de las variantes de Fab anti-LAG-3 se determinaron como se ha descrito anteriormente en el ejemplo 4A. Se utilizaron biosensores AMC para capturar fusiones Fc de ratón de LAG-3 humano y se sumergieron en pocillos que contenían múltiples concentraciones de los artículos de prueba para determinar la KD. Los resultados se muestran en la figura 53 para las variantes 2A11 y en la figura 54 para las variantes 7G8.

40 Las variantes ilustrativas 2A11 y 7G8 de los anticuerpos bivalentes anti-LAG-3 se analizaron para determinar su capacidad de bloquear la unión de LAG-3 a células Daudi que expresan MHC-II de forma endógena. Se mezcló 1 µg de LAG-3-mFc con las concentraciones indicadas de mAb durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron células Daudi y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. La unión de LAG-3-mFc se detectó con un anticuerpo secundario anti-Fc murino. Los datos se muestran en la figura 63.

45 5. mAb anti-TIM-3

50 Los clones de hibridoma anti-TIM-3 generados en el ejemplo 3 se humanizaron y diseñaron para tener una afinidad y estabilidad óptimas en formato de anticuerpo bivalente, como se describe en general anteriormente en el ejemplo 4A. Las secuencias para anticuerpos bivalentes anti-TIM-3 ilustrativos de la invención se enumeran en el listado de secuencias.

55 Se realizaron cribados de afinidad para los anticuerpos bivalentes variantes utilizando Octet. Se utilizaron biosensores AHC para capturar los artículos de prueba y se sumergieron en pocillos con múltiples concentraciones de TIM-3-His para la determinación de la KD (mostrado en la figura 22).

60 Las variantes optimizadas también se probaron para la unión de células T en un ensayo de PBMC estimulado con SEB. Las PBMC humanas se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 72 horas. Tras la estimulación, las células se trataron con los artículos de ensayo indicados. La unión de 3H3_H1_L2.1 (XENP21189) a células CD3⁺ se detectó con un anticuerpo secundario anti-Fc humano y se representó en la figura 21. La unión de 7B11_HJ1_L1.1 (XENP21196) a células CD3⁺ se detectó con un anticuerpo secundario anti-IgG-APC humano y se representó en la figura 21.

65 6. Cribado de afinidad de anticuerpos biespecíficos variantes anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 Fab-scFv

5 Los anticuerpos biespecíficos que comprenden Fab anti-LAG-3 derivados de los anticuerpos bivalentes anti-LAG-3 optimizados descritos en el ejemplo 4D y un scFv anti-CTLA-4 ilustrativo descrito en el ejemplo 4B se sometieron a cribado de afinidad usando Octet como se ha descrito generalmente anteriormente. En concreto, se utilizaron biosensores AMC o HIS1K para capturar la fusión Fc de ratón de LAG-3 humano o la fusión TEV-Fc marcada con His-Avi de LAG-3 humano y se sumergieron en pocillos que contenían los artículos de prueba para determinar la KD. Los resultados se muestran en la figura 55.

10 7. Cribado de afinidad de anticuerpos biespecíficos variantes anti-LAG-3 x anti-PD-1 Fab-scFv.

15 10 Los anticuerpos biespecíficos que comprenden Fab anti-LAG-3 derivados de los anticuerpos bivalentes anti-LAG-3 optimizados descritos en el ejemplo 4D y un scFv anti-PD-1 ilustrativo descrito en el ejemplo 4A se sometieron a cribado de afinidad usando Octet como se ha descrito generalmente anteriormente. En concreto, se utilizaron biosensores AMC o HIS1K para capturar la fusión Fc de ratón de LAG-3 humano o la fusión TEV-Fc marcada con His-Avi de LAG-3 humano y se sumergieron en pocillos que contenían los artículos de prueba para determinar la KD. Los resultados se muestran en la figura 61.

20 15 E. Ejemplo 5: Evaluación *in vitro* de anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios con brazos de afinidad y estabilidad optimizadas

25 20 1. Anticuerpos biespecíficos anti-PD-1 x anti-CTLA-4

30 a. El anticuerpo biespecífico anti-PD-1 x anti-CTLA-4 bloquea la interacción de PD-1 con PD-L1 y PD-L2

35 25 Las células HEK293T que expresaban PD-1 se incubaron con XENP20717 (anti-PD-1 x anti-CTLA-4) y controles anti-PD-1 y anti-CTLA-4 de un brazo (respectivamente XENP20111 y XENP20059) durante 30 minutos a 4 °C. Tras la incubación, se añadió PD-L1-mFc o PD-L2-mFc y se dejó incubar 30 minutos más a 4 °C. Se detectaron PD-L1-mFc y PD-L2-mFc con anticuerpo secundario anti-IgG murina.

40 30 La figura 45 muestra que XENP20717 fue capaz de bloquear la unión de PD-1 a los ligandos PD-L1 y PD-L2 de forma dependiente de la dosis. XENP20111 también fue capaz de bloquear la unión de PD-1 a los ligandos PD-L1 y PD-L2, mientras que XENP20559 no bloqueó la unión de PD-1 a sus ligandos.

45 35 b. Unión a células T del anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 en células CD3⁺.

50 40 Las PBMC humanas se estimularon con 500 ng/ml de SEB durante 3 días, se lavaron dos veces en medio de cultivo y se volvieron a estimular con 500 ng/ml de SEB durante 24 horas más. A continuación, las PBMC se trataron con XENP20717 (anti-CTLA-4 x anti-PD-1) durante 30 minutos a 4 °C. Tras el tratamiento, se lavaron las PBMC y se incubaron con un anticuerpo secundario anti-Fc-(fragmento Fab específico)-APC humano (Jackson Labs) en células CD3⁺ con un mAb anti-CD3-FITC (UCHT1). A continuación, las PBMC se lavaron dos veces y se analizaron mediante citometría de flujo. La figura 45 representa la MFI media de 7 donantes únicos de PBMC y muestra la unión de XENP20717 en células T CD3⁺ y que la unión se produjo de forma dependiente de la dosis.

55 45 c. Evaluación de variantes de biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 en la activación de células T

60 50 Los anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 con brazos Fab anti-CTLA-4 variantes se probaron en un ensayo MLR. Las PBMC mixtas se trataron con 69,5 nM de anticuerpos bivalentes (por ejemplo, nivolumab) o 139 nM de anticuerpos biespecíficos (por ejemplo, XENP16004) para concentraciones de unión a PD-1 equimolares. Los datos representados muestran los resultados de algunas pruebas de detección de Fab anti-CTLA-4. Esto representa el código XENP para las realizaciones de Fab y scFv, la designación de los dominios de ingeniería vh y vl, la constante de unión KD contra CTLA-4 humano y cyno medida por Octet, y la Tm del scFv y Fab. Además, el número de secuencias de 9 unidades monoméricas que coincidían exactamente con al menos una línea germinal de VH o VL humana se representa como una medida de humanidad para las regiones variables tanto de los Fab como de los scFv.

65 55 La figura 25B muestra que varios de los anticuerpos biespecíficos permiten una inducción de IL-2 superior a la del nivolumab solo.

70 60 En un ensayo de estimulación de PBMC con SEB, las PBMC se trataron con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, se lavaron las células y se trataron con 20 µg/ml de XENP16432 (nivolumab) o XENP20717 y 500 ng/ml de SEB. En el sobrenadante se analizó la IL-2 como indicador de la activación de las células T. Los datos representados en la figura 69 muestran que el biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 induce significativamente más liberación de IL-2 que el nivolumab solo.

75 65 En otro estudio, se probaron XENP16432, XENP20717 y un control combinado de un brazo en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC se estimularon con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, se lavaron las células una vez con PBS y luego se añadió medio de cultivo con 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados y

500 ng/ml de SEB. Los sobrenadantes se recogieron a las 24 horas y se analizaron para IL-2. En un experimento de control sin estimulación de SEB, las PBMC se trataron con los artículos de prueba indicados durante 3 días antes de analizar el sobrenadante para IL-2. El cambio de veces en la concentración de IL-2 se muestra en la figura 45A-C.

Como se muestra en la figura 45B, XENP20717 aumentó la secreción de IL-2 significativamente más que nivolumab. Los datos muestran que XENP20717 activa las células T de forma más potente que el anti-PD-1 bivalente solo, así como que una combinación de anti-PD-1 de un brazo y anti-CTLA-4 de un brazo, lo que demuestra la ventaja de activar selectivamente las células T que expresan múltiples receptores de puntos de control inmunitario. En particular, y en consonancia con los hallazgos descritos en el ejemplo 2B, XENP20717 biespecífico potenció la secreción de IL-2 en mayor medida que la combinación de anticuerpos de un brazo derivados de XENP20717.

10 Un anticuerpo biespecífico adicional dirigido a CTLA-4 y PD-1 con un brazo scFv anti-CTLA-4 y un brazo Fab variante 2E9 anti-PD-1 y artículos de prueba de control se probaron en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC humanas se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 2 días. Las células se lavaron y se volvieron a estimular con 100 ng/ml de SEB en combinación con 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados. Se analizaron los sobrenadantes para IL-2 e IFNy 24 horas después del tratamiento (representados respectivamente en la figura 19A y B).

2. Evaluación *in vitro* de anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-LAG-3 x anti-PD-1

a. Evaluación de variantes de biespecíficos anti-LAG-3 x anti-PD-1 en la activación de células T

20 En un ensayo de estimulación de PBMC con SEB, las PBMC se trataron con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, se lavaron las células y se trataron con 20 µg/ml de XENP16432 (nivolumab) o XENP22604 y 500 ng/ml de SEB. El sobrenadante se analizó para IL-2 como indicador de la activación de células T (representado en la figura 69).

25 También se evaluaron otros anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-PD-1 con brazos Fab 2A11 anti-LAG-3 optimizados (derivados de mAb variantes generados como se describe en el ejemplo 4) para la activación de células T en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB. Se estimularon PBMC humanas de múltiples donantes con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, las células se lavaron dos veces en medio de cultivo y se estimularon con

30 500 ng/ml de SEB en combinación con 10 µg/ml de los artículos de ensayo indicados. 24 horas después del tratamiento, se analizaron los sobrenadantes celulares para IL-2 e IFNy. Los datos se muestran en la figura 64 para el aumento de veces de IL-2 e IFNy sobre Numax bivalente. Cada punto indica un donante representado en singlete técnico.

35 Los datos muestran que varios de los anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-PD-1 activan las células T de forma más potente que el nivolumab solo o el anti-LAG-3 bivalente solo.

3. Evaluación *in vitro* de anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1

a. Unión a células T de anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 en células CD3⁺.

40 Se evaluó la unión a células T de anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 con brazos Fab anti-BTLA optimizados (derivados de variantes mAb generadas como se describe en el ejemplo 4). Las PBMC humanas se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 3 días, tras lo cual las PBMC se trataron con los artículos de prueba indicados durante 30 minutos a 4 °C. A continuación, las PBMC se incubaron con un anticuerpo secundario anti-Fc humano durante 30 minutos a 4 °C. La figura 47 muestra la unión de los artículos de ensayo indicados a células CD3⁺.

45 Los datos muestran que los anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-PD-1 x anti-BTLA de la invención (por ejemplo, XENP20895, XENP21220 y XENP21221) se unen más ávidamente a las células T en comparación con los controles de un solo brazo (por ejemplo, XENP21446 y XENP16011). Esto demuestra que la unión a células T humanas es generalmente mejor con anticuerpos biespecíficos, cada brazo uniendo monovalentemente un antígeno diferente, que con anticuerpos monovalentes, monoespecíficos, como los controles de un solo brazo.

b. Evaluación de variantes de biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 en la activación de células T

50 Los anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 con prototipos anti-BTLA (p. ej. 4C7, 8D5 y E8D9) y brazos Fab 9C6 se evaluaron para la activación de células T en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC humanas de múltiples donantes se estimularon con 10 ng/ml de SEB durante 72 h con 5 µg/ml o 20 µg/ml según lo indicado en los artículos de prueba. Tras el tratamiento, se analizaron los sobrenadantes celulares para IL-2 e IFNy mediante ELISA, representados respectivamente en las figuras 1J y 1K. Los datos muestran que los anticuerpos biespecíficos que incluyen el brazo derivado del hibridoma 9C6 potenciaron la activación de las células T no solo más que los bivalentes anti-PD-1 solos, sino también más que los biespecíficos con los brazos Fab anti-BTLA prototipo.

55 Se evaluó un ensayo ilustrativo anti-BTLA x anti-PD-1 XENP21220 y XENP16432 (nivolumab) en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB. Las PBMC se trataron con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, se lavaron las

células y se trataron con 20 µg/ml de XENP16432 o XENP21220 y 500 ng/ml de SEB. El sobrenadante se analizó para IL-2 como indicador de la activación de células T (representado en la figura 69).

Se evaluaron otros biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 con brazos Fab 9C6 anti-BTLA variantes y anticuerpos 9C6 variantes de un brazo (solos y en combinación con anticuerpo anti-PD-1 de un brazo) para la activación de células T en un ensayo de PBMC estimuladas con SEB como se ha descrito anteriormente. Los datos se muestran en la figura 1L para el aumento de veces de la secreción de IL-2 e IFNy en comparación con el tratamiento con PBS.

4. Evaluación *in vitro* de anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4

a. Unión a células T de anticuerpos biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 en células CD3⁺.

Se evaluaron los biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 con brazos Fab anti-LAG-3 variantes y anticuerpos anti-LAG-3 variantes de un brazo para determinar su unión a células T. Las PBMC humanas se estimularon con 100 ng/ml de SEB durante 3 días, tras lo cual las PBMC se trataron con los artículos de prueba indicados durante 30 minutos a 4 °C. Tras el tratamiento, las PBMC se incubaron con anticuerpos anti-CD3-FITC y anti-Fc-APC humano durante 30 minutos a 4 °C. A continuación, las PBMC se lavaron dos veces y se analizaron mediante citometría de flujo. La figura 56 muestra la unión de los artículos de ensayo indicados a células T CD3⁺.

Los datos muestran que varios de los anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 de la invención (por ejemplo, XENP22505 y XENP21896) se unen más ávidamente a las células T en comparación con los controles de un solo brazo (por ejemplo, XENP22516). Esto demuestra que la unión a células T humanas puede ser mejor con anticuerpos biespecíficos, cada brazo uniendo monovalentemente un antígeno diferente, que con anticuerpos monovalentes, monoespecíficos, como los controles de un solo brazo.

b. Activación de células T por anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4

Se evaluaron los anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 para la activación de células T en ensayos de MLR y PBMC estimuladas con SEB.

Se realizaron 40 reacciones MLR en presencia de 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados, y se analizó el sobrenadante celular 6 días después del tratamiento para IL-2 e IFNy. La figura 59 muestra la inducción de veces de IL-2 e IFNy con anti-RSV bivalente (XENP 15074).

En un ensayo de estimulación de PBMC con SEB, las PBMC se trataron con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, se lavaron las células y se trataron con 20 µg/ml de XENP16432 (nivolumab), XENP22602 o una combinación de XENP16432 y XENP22602 y 500 ng/ml de SEB. El sobrenadante se analizó para IL-2 como indicador de la activación de células T (representado en la figura 69).

En otro ensayo con PBMC estimuladas con SEB, se evaluaron biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 adicionales. Se estimularon PBMC humanas de múltiples donantes con 500 ng/ml de SEB durante 2 días. A continuación, las células se lavaron dos veces en medio de cultivo y se estimularon con 500 ng/ml de SEB en combinación con 20 µg/ml de los artículos de ensayo indicados. 24 horas después del tratamiento, se analizaron los sobrenadantes celulares para IL-2 e IFNy. Los datos se muestran en la figura 57 y en la figura 58 y la figura 60 para el aumento de veces de IL-2 e IFNy sobre Numax bivalente. Cada punto indica un donante representado en singlete técnico.

Los datos concuerdan con el ejemplo 2D al mostrar que una combinación de anti-PD-1 bivalente y anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 biespecífico ejerce un efecto sinérgico en la activación de células T. Además, los datos muestran que los anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 basados en 7G8 muestran una función más selectiva en las PBMC que los anticuerpos biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 basados en 2A11.

F. Ejemplo 6: Evaluación *in vivo* de anticuerpos biespecíficos contra puntos de control inmunitarios

1. Los biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 mejoran el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas.

En varios estudios de EICH, se demostró que los anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 ilustrativos de la invención mejoraban el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas.

En un primer estudio, se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP en el día 0. El día 1, los ratones recibieron dosis de XENP16432 (2,89 mg/kg), XENP20053 (2 mg/kg) y una combinación de XENP16432 y XENP16433 (2,89 + 2,92 mg/kg). Los recuentos de células CD45+ se midieron el día 14 (representados en la figura 70).

Se evaluaron otros biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 con variantes de los brazos anti-CTLA-4 Fab y anti-scFv de PD-1. Se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP el día 0 seguido de la dosificación

con los artículos de ensayo indicados (5 mg/kg o según se indique) el día 1. Los recuentos de células CD45+ se midieron el día 14 (figura 1QA, figura 1RA y figura 1S). También se midieron los niveles de IFNy como indicador adicional de la EICH y se representaron gráficamente frente a los niveles de células CD45+ (representa la reacción linfocitaria mixta observando el aumento de la liberación de IL-2 por anticuerpos biespecíficos anti-CTLA-4 x anti-PD-1 con brazos Fab anti-CTLA-4 variantes y brazos scFv anti-PD-1 variantes, así como nivolumab solo, ipilimumab solo y un prototipo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 basado en los brazos de nivolumab e ipilimumab como controles).

5 Figura 27 y figura 30).

10 Los datos muestran que los anticuerpos de punto de control biespecíficos anti-PD-1 x anti-CTLA-4 de la invención aumentan la proliferación de células CD45+ en ratones NSG injertados con PBMC humanas en comparación con el control (PBS + PBMC). Además, la mejora es mayor utilizando anticuerpos de la invención que la observada con nivolumab (XENP16432) solo. La figura 31 muestra la comparación del efecto del artículo de ensayo sobre la proliferación de células CD45+ entre los estudios 160314 (presentado en la figura 26) y 160331 (presentado en la figura 29). Ambos estudios demuestran sistemáticamente la superioridad de los anticuerpos biespecíficos de punto de control anti-PD-1 x anti-CTLA-4 frente a nivolumab solo.

15 En otro estudio, se evaluó un anticuerpo biespecífico anti-CTLA-4 x anti-PD-1 con Xtend Fc. Se administraron a ratones injertados con PBMC los artículos de ensayo indicados en las concentraciones indicadas y se midieron los eventos CD45+, CD4+ y CD8+ el día 14 (representados en la figura 20).

20 2. Los biespecíficos anti-BTLA x anti-PD-1 mejoran el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas.

25 En un primer estudio, se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP en el día 0. El día 1, los ratones recibieron dosis de XENP16432 (2,89 mg/kg) y XENP20895 (5 mg/kg). Los recuentos de células CD45+ se midieron el día 14 (representados en la figura 70).

30 El biespecífico anti-BTLA x anti-PD-1 XENP20895 se evaluó en un segundo estudio de EICH. Se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP el día 0, tras lo cual se administraron los artículos de ensayo indicados (en las concentraciones indicadas) el día 1. Los recuentos de células CD45+ y de IFNy se midieron en los días 10, 14 y 22 (representados respectivamente en la figura 51).

35 3. Los biespecíficos anti-LAG-3 x anti-PD-1 mejoran el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas.

40 En una EICH, se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP en el día 0. El día 1, los ratones recibieron dosis de XENP16432 (2,89 mg/kg) y XENP22672 (5 mg/kg). Los recuentos de células CD45+ se midieron el día 14 (representados en la figura 70).

45 En el segundo estudio descrito en el ejemplo 6A, también se evaluó otro anti-LAG-3 x anti-PD-1 ilustrativo (XENP22847) (figura 20C).

50 4. Los biespecíficos anti-LAG-3 x anti-CTLA-4 mejoran el injerto y la actividad de la enfermedad en ratones NSG injertados con PBMC humanas.

55 En una EICH, se injertaron 10 millones de PBMC humanas en ratones NSG por vía IV-OSP en el día 0. El día 1, los ratones recibieron dosis de XENP16432 (2,89 mg/kg), XENP22675 (5 mg/kg) y una combinación de XENP 16432 y XENP22675 (5 + 5 mg/kg). Los recuentos de células CD45+ se midieron el día 14 (representados en la figura 70).

60 50 Los datos muestran que XENP22675 mejora el injerto y la actividad de la enfermedad en comparación con la dosis de nivolumab solo. En particular, XENP22675 en combinación con nivolumab actúa de forma sinérgica para mejorar aún más el injerto.

55 G. Ejemplo 7: Anticuerpos biespecíficos anti-PD-1 x anti-CTLA-4 muestran actividad antitumoral en ratones NSG injertados con células cancerosas KG1A-luc y PBMC humanas

65 Se injertaron en ratones NOD SCID gamma (NSG) con células cancerosas KG1A-luc en el día 0. El día 21, se injertaron PBMC humanas por vía intraperitoneal en los ratones. Tras el injerto de PBMC, los artículos de ensayo indicados se dosificaron semanalmente mediante inyección intraperitoneal (a los ratones de control se les administró PBS). Se monitorizó el crecimiento tumoral midiendo el flujo total por ratón usando un sistema de obtención de imágenes *in vivo* (IVIS® Lumina III) y los datos se muestran (días después de la 1.^a dosis) en la figura 71.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo heterodimérico contra PD-1 y CTLA-4 que consiste en
5 a) un primer monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º 23576;
 b) un segundo monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º 23581; y
 c) un tercer monómero que tiene la secuencia de aminoácidos de la Id. de sec. n.º 23591.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 1A-1E

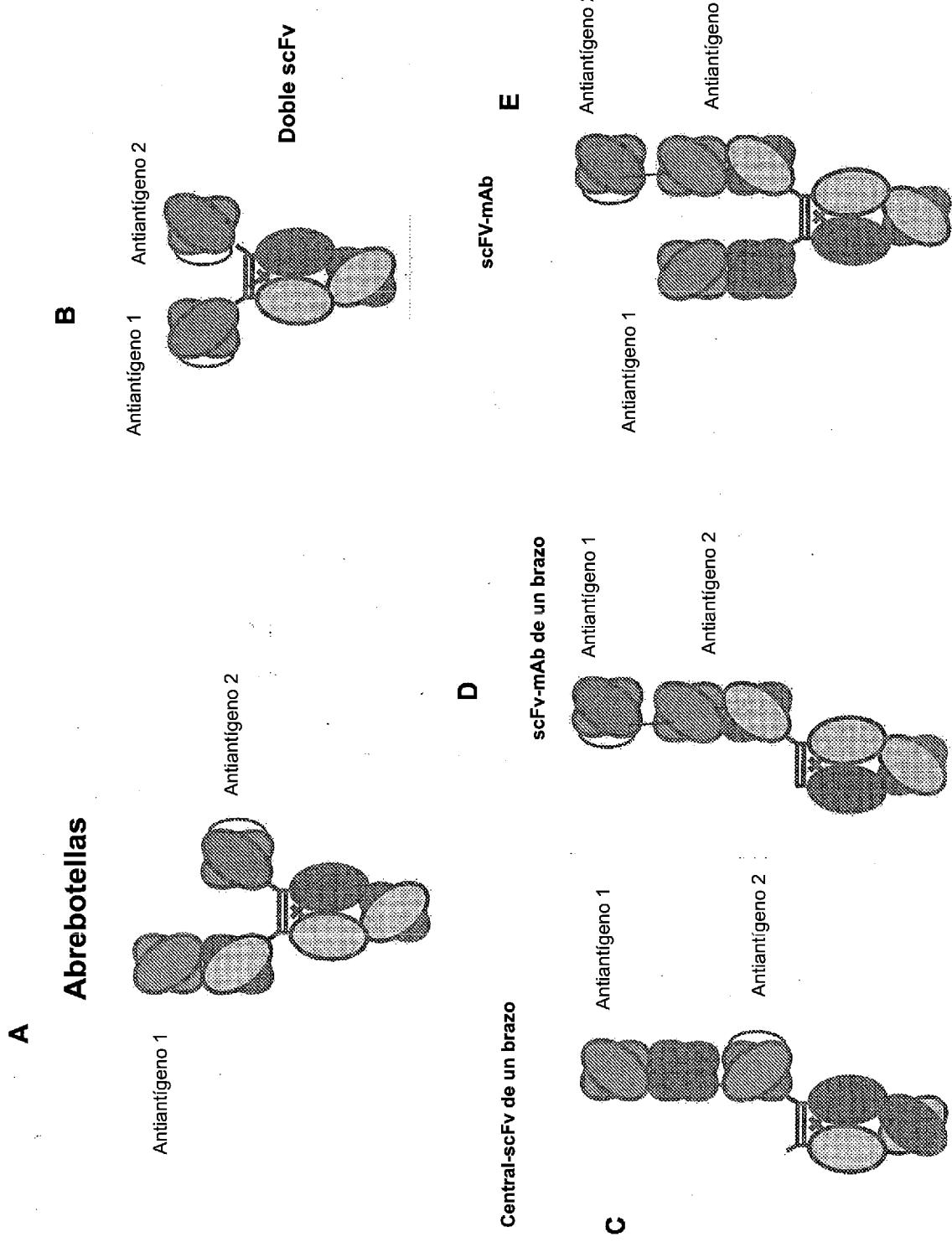


Figura 1F-1I

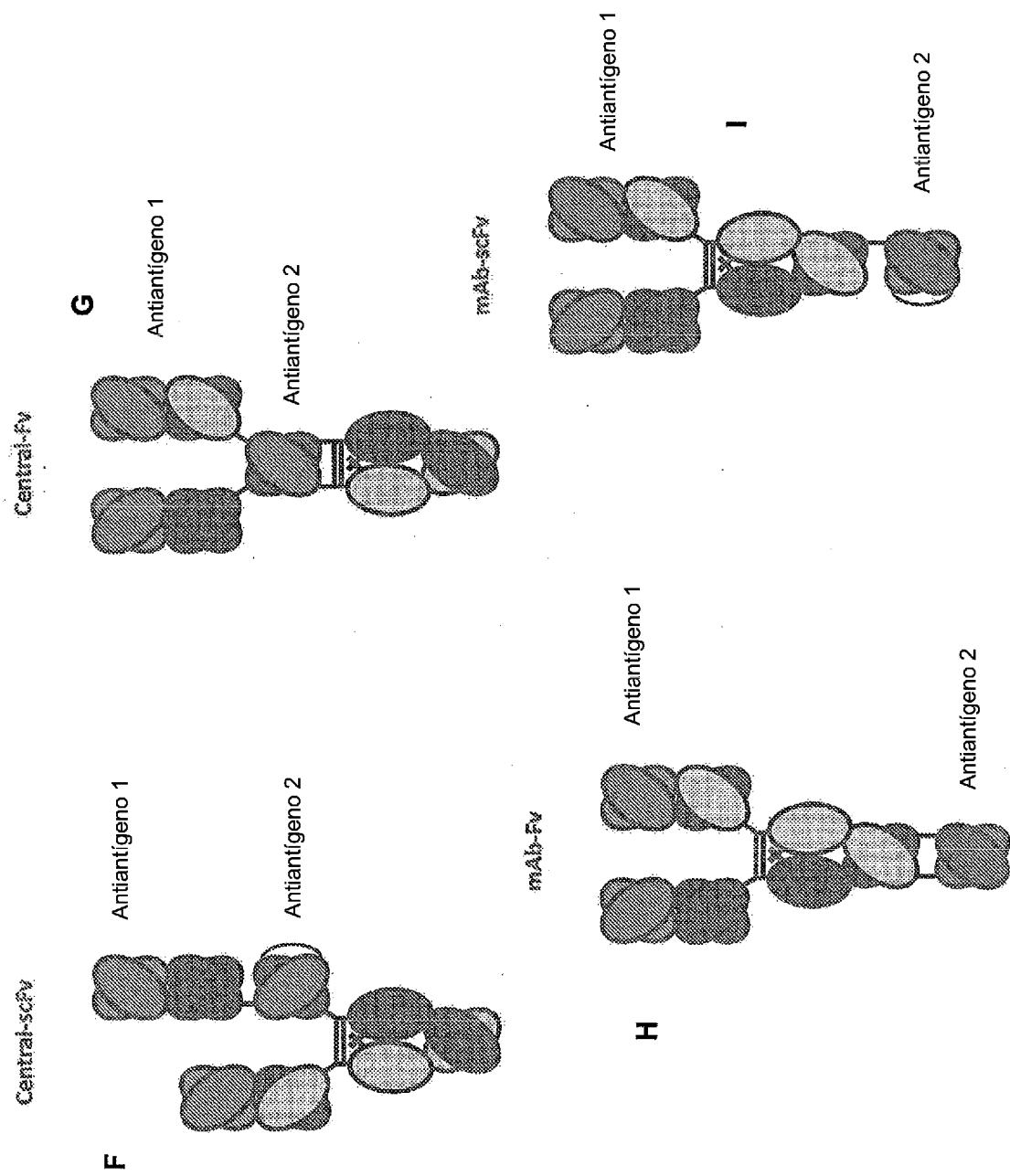


Figura 2A**Secuencias de antígenos****Secuencia PD-1 humana**

```
>sp|Q15116 Id. de sec. n.º: 1
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDF
SQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVG
VVGGLLGSILVLLVWVLAVICSAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPGSMG
TSSPARRGSAADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
```

Secuencia PD-1 humana, dominio extracelular

```
>sp|Q15116|21-170 Id. de sec. n.º: 2
PGWFELDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDF
HMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV
```

Secuencia PD-1 de macaca fascicularis

```
>tr|B0LAJ3 Id. de sec. n.º: 3
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFILESPDRPWNAPTFSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDF
SQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALVVG
VVGGLLGSILVLLVWVLAVICSAARGTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPAPCVCPEQTEYATIVFPGSLG
TSSPARRGSAADGPRSPRPLRPEDGHCSWPL
```

Secuencia PD-1 de macaca fascicularis, dominio extracelular (previsto)

```
>tr|B0LAJ3|21-170 Id. de sec. n.º: 4
PGWFLESPDRPWNAPTFSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDF
HMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALV
```

Secuencia CTLA-4 humana

```
>sp|P16410 Id. de sec. n.º: 5
MACLGQQRHKAQQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCKAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCA
ATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWIIAVSS
GLFFYSFLLTAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN
```

Secuencia CTLA-4 humana, dominio extracelular

```
>sp|P16410|36-161 Id. de sec. n.º: 6
KAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRA
MDTGLYICKVELMYPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSD
```

Figura 2B

Secuencia CTLA-4 de *macaca fascicularis*

```
>tr|G7PL88 Id. de sec. n.º: 7  
MACLGFQRHKARLNLATRTRPYTLLFSLLLFIPIVFSKAMHVAQPAVVLANSRGIAASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCA  
ATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPYYMIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWIЛАAVSS  
GLFFYSFLITAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPECEKQFQPYFIPIN
```

Secuencia CTLA-4 de *macaca fascicularis*, dominio extracelular (previsto)

```
>tr|G7PL88 Id. de sec. n.º: 8  
KAMHVAQPAVVLANSRGIAASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRA  
MDTGLYICKVELMYPPYYMIGNGTQIYVIDPEPCPDSD
```

Secuencia LAG-3 humana

```
>sp|P18627 Id. de sec. n.º: 9  
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEVPVVWAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHP  
AAPSSWGPRPRRTVLSVGPGLRSGRPLQPRVQDLERGRQRGDFSLWLRLPARADAGEYRAAVHLRDRALSCRLLRLQASMT  
ASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNRGQGRVPVRESPHHHILAESFLFLPVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLT  
VLGLEPATPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSLTAKWTPGGGPDLILVTGDNGDFTLRLLEDVSQAQAGTYTCHIHLQEQQQLNA  
TVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAYVFTEL  
SSPGAQRSGRAPGALPAGHLLFLTLGVLSLLLLVTGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKEELEQEPEPEPEPEPE  
EPEPEPEQ
```

Secuencia LAG-3 humana, dominio extracelular

```
>sp|P18627|29-450 Id. de sec. n.º: 10  
VPVVAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRTVLSVGPGLRSGRPL  
FLQPRVQDLERGRQRGDFSLWLRLPARADAGEYRAAVHLRDRALSCRLLRLQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASV  
HWFRNRGQGRVPVRESPHHHILAESFLFLPVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPATPLTVYAGAGSRVGLPCRLPA  
GVGTRSLTAKWTPGGGPDLILVTGDNGDFTLRLLEDVSQAQAGTYTCHIHLQEQQQLNAITVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEV  
TVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAYVFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGH
```

Secuencia LAG-3 de *macaca fascicularis* (prevista)

```
>gi|544467815|ref|XP_005570011.1 Id. de sec. n.º: 11  
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPPQPGAEISVVAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAXAPGHPPVPGH  
AAPYSWGPRPRRTVLSVGPGLRSGRPLQPRVQDLERGRQRGDFSLWLRLPARADAGEYRATVHLRDRALSCRLLRLQVQASMT  
ASPPGSLRTSDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRSRGQGRVPVQGSPHHHILAESFLFLPVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLT  
VLGLEPATPLTVYAGAGSRVELPCRLPAGVGTRSLTAKWAPPGGGPDLILVAGDNGDFTLRLLEDVSQAQAGTYTCHIHLQGQQQLNA  
TVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPASGQEHFWSPINTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLHQGERLLGAAYVFTEL  
SSPGAQRSGRAPGALRAGHPLFLILGVLFLLLVTVGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKEELEQEPELEPEPELER  
ELGPEPEPGPEPEPEQ
```

Figura 2C**Secuencia LAG-3 de macaca fascicularis, dominio extracelular (previsto)**

```
>gi|544467815|ref|XP_005570011.1|29-450 Id. de sec. n.º: 12
ISVVAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDGPPAXAPGHPPVPGHPRPAAPYSWGP
PRPRTYTVLSVGPGGLRSGR
PLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRATVHLRDRALSCRRLRVGQASMTASPPGSLRTSDWV
ILNCFSRPRDPASV
HWFRSRGQGRPVQGSPHHHLAESFLFLPHVGPMDSGLWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGEPATPLTVYAGAGS
RVELPCRLPP
AVGTQSFLTAKWAPPGGPDLLVAGDNGDFTLLEDVSQAQAGTYICHIRLQGQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPG
SLGKLLCEVT
PASGQEHFVWSPLNTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQWPQCQLHQGERLLGAAYFTELSSPGAQRSGRAPGALRAGHL
```

Secuencia BTLA humana

```
>sp|Q7Z6A9 Id. de sec. n.º: 13
MKTLPAMLGTGKLFWVFFLIPYLDIWNIGHKESCDVQLYIKRQSEHSILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKLN
GTTCVKLEDRQ
TSWKEEKNISFFILHFEPEVLPNDNSYRCSANFQSNLIESHSTTLVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYRLLPL
GGPLLIITCF
CLFCCLRRHQGKQNELSDTAGREINLVD AHLKSEQTEASTRQNQVLLSETGIYDNDPDLCFRMQEGSEVY
SNPCLEENKPGIVYA
SLNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS
```

Secuencia BTLA humana, dominio extracelular

```
>sp|Q7Z6A9|31-157 Id. de sec. n.º: 14
KESCDVQLYIKRQSEHSILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKLN
GTTCVKLEDRQTSWKEEKNISFFILHFEPEVLPNDNSYRC
ANFQSNLIESHSTTLVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYR
```

Secuencia BTLA de macaca fascicularis (prevista)

```
>gi|355746406|gb|EHH51020.1 Id. de sec. n.º: 15
MKTLPAMLGSRLFWVFFLIPYLDIWNIGHKESCDVQLYIKRQSYHSIFAGDRFKLECPVKYCAHRPQVTWCKLN
GTTCVKLEGRH
TSWKQEKNLISFFILHFEPEVLPNDNSYRCSANFLSAIIIESHSTTLVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLY
SLLPLGGPLLIITCF
CLFCFLRRHQGKQNELSDTRREITLVDVPFKSEQTEASTRQNQVLLSETGIYDNEPDFCFRMQEGSEVY
SNPCLEENKPGIYA
SLNHSIIIGLNARQARNVKEAPTEYASICVRS
```

Secuencia BTLA de macaca fascicularis, dominio extracelular (previsto)

```
>gi|355746406|gb|EHH51020.1|31-157 Id. de sec. n.º: 16
KESCDVQLYIKRQSYHSIFAGDRFKLECPVKYCAHRPQVTWCKLN
GTTCVKLEGRHTSWKQEKNLISFFILHFEPEVLPNDNSYRC
ANFLSAIIIESHSTTLVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYS
```

Secuencia TIM-3 humana

```
>sp|Q8TDQ0 Id. de sec. n.º: 17
MFSHLPFDVCVLLLLLRLTRSSVEVEYRAEVGQNA
YLPFCFYTPAAPG
NLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWT
TSRYWLNG
DFRKGDVSILTENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVT
PAPTRQ
RDTAAFP
RMLTTRGHPAETQTLGSLPDIN
LTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFK
WYSHSKEKIQNL
SLISLANLPPSGL
ANAVAEGI
RSEENIYTIEENVYEV
EPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAM
```

Figura 2D

Secuencia TIM-3 humana, dominio extracelular

```
>sp|Q8TDQ0|22-202 Id. de sec. n.º: 18  
SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLLTIENVTLADSGI  
YCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAFPRLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLR  
DSGATIRIG
```

Secuencia TIM-3 de macaca fascicularis (prevista)

```
>gi|355750365|gb|EHH54703.1 Id. de sec. n.º: 19  
MFSHLPFDCVLLLLLLELTRSEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGNLVPVCWGKGACPVFDGSNVVLRTDNRDVNDRSGRYWLK  
GDFHKGDVSLLTIENVTLADSGVYCCRIQIPGIMNDEKHNVKLVIKPAKVTPAPTLQRDLTSAPRMLTTGEHGPAETQTPGSLPD  
VNLTVSNNFFCELQIFTLTNELRDGATIRTATIYIAAGISAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKTQNLSLISIANIPPSGLANAVAEG  
IRSEENIYTIEEDVYEVEEPNEYCYVSSGQQPSQPLGCRVAMP
```

Secuencia TIM-3 de macaca fascicularis, dominio extracelular (previsto)

```
>gi|355750365|gb|EHH54703.1|22-203 Id. de sec. n.º: 20  
SEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGNLVPVCWGKGACPVFDGSNVVLRTDNRDVNDRSGRYWLKGDFHKGDVSLLTIENVTLADSG  
VYCCRIQIPGIMNDEKHNVKLVIKPAKVTPAPTLQRDLTSAPRMLTTGEHGPAETQTPGSLPDVNLTVSNNFFCELQIFTLTNEL  
RDGATIRTATIY
```

ES 2 995 596 T3

II. Figura 3A Variantes de sesgo

Monómero 1	Monómero 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

Figura 3B

Monómero 1	Monómero 2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

Figura 3C

Monómero 1	Monómero 2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

Figura 3D

Monómero 1	Monómero 2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

Figura 3E

Monómero 1	Monómero 2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W

Figura 3F

Monómero 1	Monómero 2
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

III. Figura 4 Variantes de pl

<u>Región constante variante</u>	<u>Sustituciones</u>
pl_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pl_(-)_isostéric_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pl_(-)_isostéric A-Fc únicamente	Q295E N384D Q418E N421D
pl_(-)_isostéric_B	N208D Q295E Q418E N421D
pl_(-)_isosteric_B-FC únicamente	Q295E Q418E N421D
pl_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pl_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pl_(+)_isostéric_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pl_(+)_isostéric_B	E269Q E272Q E283Q
pl_(+)_isostéric_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pl_(+)_isostéric_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pl_(+)_isostéric_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pl_(+)_isostéric_E269Q	E269Q

IV. Figura 5 Variantes de ablación

Variante	Variante(s), cont.
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

Figura 6A Combinaciones útiles

Monómero de scFv (+)	Monómero de Fab (-)
Variantes S364K/E357Q de pl del heterodímero	Variantes L368D/K370S de pl de la heterodimerización
Enlazador cargado de scFv opcional que incluye, pero sin limitarse a, (GKPGS) ₄ (Id. de sec. n.º: 37755)	Sustituciones de pl isostéricas N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S para FcRn	± 428L/434S para FcRn
scFv del ABD del inhibidor de puntos de control	Fv/Fab o el otro de ABD del inhibidor de puntos de control

Figura 6B

Monómero de scFv	Monómero de Fab
Variantes S364K/E357Q de pl del heterodímero	Variantes L368D/K370S de pl de la heterodimerización
Enlazador cargado de scFv opcional que incluye, pero sin limitarse a, (GKPGS) ₄ (Id. de sec. n.º: 37755)	sustituciones de pl I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S para FcRn (opcional)	± 428L/434S para FcRn (opcional)
scFv de un inhibidor de puntos de control	Fv/Fab del otro de ABD de un inhibidor de puntos de control

Figura 7A Enlazadores**Enlazadores de scFv cargados positivamente**

Nombre	Secuencia	Longitud	Carga	Id. de sec. n.º:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGSGGGGS	15	0	37699
Enlazador Whitlow	GSTSGSGKPGSGEKGSTKG	18	+1	37700
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	37701
+B	GKGGSGKGGSKGKGS	15	+3	37702
+C	GGKGSGGKGSGGGKGS	15	+3	37703
+D	GGGKSGGGKGSGGGKS	15	+3	37704
+E	GKGKSGKGKGSKGS	15	+6	37705
+F	GGGKSGGKGSGKGGS	15	+3	37706
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	37707
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	37708
+I	GKGKSGKGKGSKGSKGKS	20	+8	37709

Enlazadores de scFv cargados negativamente

Nombre	Secuencia	Longitud	Carga	Id. de sec. n.º:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	20	0	37710
3hsc_2 (-A)	STAGDTLGGEDFD	14	-4	37711
-B	GEGGSGEGGSGEGGS	15	-3	37712
-C	GGEGSGGEGSGGEGS	15	-3	37713
-D	GGGESGGGESGGGES	15	-3	37714
-E	GEGESGEGESGESES	15	-6	37715
-F	GGGESGGEGSGEGGS	15	-3	37716
-G	GEGESGEGESGEGESGESES	20	-8	37717

Figura 7B

Enlazadores de scFv

GGGGSGGGGSGGGGS	(Id. de sec. n.º:37718)
GGGGSGGGGSGGGSGGGGS	(Id. de sec. n.º:37719)
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	(Id. de sec. n.º:37720)
PRGASKSGSASQTGSAPGS	(Id. de sec. n.º:37721)
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	(Id. de sec. n.º:37722)
GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	(Id. de sec. n.º:37723)
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	(Id. de sec. n.º:37724)

ES 2 995 596 T3

VII. Figura 8 Tms de sesgos

XENP	Variante de sesgo del heterodímero, Cadena 1	Variante de sesgo del heterodímero, Cadena 2	Rendimiento del heterodímero (%)	Tm de CH3 (°C)
12757	Ninguno	Ninguno	52,7	83,1
12758	L368D/K370S	S364K	94,4	76,6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90,2	77,2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95,2	77,5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85,6	80,6
12496	L368E/K370S	S364K	91,5	n.d.
12511	K370S	S364K	59,9	n.d.
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59,5	n.d.
12841	K370S	S364K/E357Q	90,4	n.d.
12894	L368E/K370S	S364K	41,0	n.d.
12895	K370S	S364K	49,3	n.d.
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73,9	n.d.
12901	K370S	S364K/E357Q	87,9	n.d.

Figura 9A XENP19690_1G6_H1.279_L1.194 secuencias Fv anti-PD-1

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio Vh	EVOLVESCGGLVKPGKGLWVAEIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN NLKTEDTGVVYCTERYGNYYGGEDVWGRGTIVTVSS	11376
vhCDR1	NYNNN	37760
vhCDR2	EIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN	37761
vhCDR3	YYGNYGGYFDV	37762
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio VI	EIVLTQSPATLSASPERVTITCASAQSVDNDAWYQQKPGQAPRLINYASHRTYTGVEDRTGSGYGTETLTMISSVQSEDFGVY YQQDEFSSEPTEGGEGTKEIKR	11377
viCDR1	RASQSVENDVA	37764
viCDR2	YASHERYT	37765
viCDR3	QDFESSPRT	37766
scFv	EVOLVESCGGLVKPGKGLWVAEIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN NLKTEDTGVVYCTERYGNYYGGEDVWGRGTIVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSASPERVTITCASAQS VGMNDWAWYQQKPGQAPRLINYASHRTYTGVEDRTGSGYGTETLTMISSVQSEDFGVYCOODESSPRTEGGEGTKEIK/	37767

Figura 9B 1G6_H1.280_L1.224 secuencias Fv anti-PD-1

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESCGGLVKPGKGLWVAEIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN NLKTEDTGVVYCTERYGNYYGGEDVWGRGTIVTVSS	37768
vhCDR1	NYNNN	37769
vhCDR2	EIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN	37770
vhCDR3	YYGNYGGYFDV	37771
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vi)	EIVLTQSPATLSASPERVTITCASAQSVDNDAWYQQKPGQAPRLINYASHRTYTGVEDRTGSGYGTETLTMISSVQSEDFAVY YQQDWSSESPRTGGTKEIK	37772
viCDR1	KASQSVENDVA	37773
viCDR2	YASHERYT	37774
viCDR3	QDFESSPRT	37775
scFv	EVOLVESCGGLVKPGKGLWVAEIRLYNNYATHYAESVKGRFTISRDSSKSTLYLQMN NLKTEDTGVVYCTERYGNYYGGEDVWGRGTIVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSASPERVTITCASAQS VGMNDWAWYQQKPGQAPRLINYASHRTYTGVEDRTGSGYGTETLTMISSVQSEDFAVYCOODWSSSPRTGGTKEIK	37776

Figura 9C XENP19692_1G6_L1.194_H1.279 secuencias Fv anti-PD-1

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio ligero variable (vl)	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGVY YCOQDFESSPERTFGGGTPKVEIK	377777
VLCDR1	RASQSVGNDA	37778
VLCDR2	YASHRTV	37779
VLCDR3	QDESSERT	37780
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio pesado variable (vh)	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGVN MLKTEDTGTGVYCTTRYGNYGGYEDVWGRGTVTVSS	37781
VhCDR1	NYMMN	37782
VhCDR2	EIRLYSNVATHYAEHSVKG	37783
VhCDR3	YGGNYYGGYEDV	37784
scFv	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGVY YCOQDFESSPERTFGGTPKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVOLVESGGGLVKGFFSLRLSCVASGFTFSNMVWGRQAFGK GILWVAEIRLYSNVATHYAEHSVKGRTIISREDDSKSILVYQENNLKPEDIGVYCYURVYGNYGGYEDVWGRGTVTVSS	37785

Figura 9D XENP19669_1G6_L1.210_H1.288 secuencias Fv anti-PD-1

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio ligero variable (vl)	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGV YCOQDFESSPERTFGCGTKVEIK	37786
VLCDR1	RASQSVGNDA	37787
VLCDR2	YASHRT	37789
VLCDR3	QDESSERT	37790
Enlazadores de scFv	GKEGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio pesado variable (vh)	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGV MLKTEDTGTGVYCTTRYGNYGGYEDVWGRGTVTVSS	37790
VhCDR1	NYMMN	37791
VhCDR2	EIRLYSNVATHYAEHSVKG	37792
VhCDR3	YGGNYYGGYEDV	37793
scFv	EIVLITQSPATLSASFGERVILTCRASOSVENDVAWYQOKPGQAPRILLINAYASHRYTGVEDRIFTSGGYGIEFTLITISSVQSEDFGV YCOQDFESSPERTFGCGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLVESGGGLVKGFFSLRLSCVASGFTFSNMVWGRQAFGK GKCLEWVAEIRLYSNVATHYAEHSVKGRTIISREDDSKSILVYQENNLKTEDIGVYCTRYGNYGGYEDVWGRGTVTVSS	37794

Figura 9E XENP20162 2E9_H1L1 secuencias Fv anti-PD-1

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVOSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWIGWVROAPGQGLEMMGNFYPGSSNTYYNEKFOGRVTMTADKSI STAYMELSRRLRSDDTAVYFCARHYGTNRYRFDWAGTLTVVSS	37795
vhCDR1	NWTIC	37796
vhCDR2	NEYPGSSNTYYNEKFOQ	37797
vhCDR3	HYGTNRYRFDV	37798
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKEGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	DIVLEQSPGTLSLSPGERATLSCRASSVSNDVAVYQQKPGQSPLIYIASNRYTGVFDRTGSGYGTDFLTIS RLEPEDFAVYFCQDYSSEPYTEGGGTKEIK	37799
vlCDR1	RASOSVSNDVA	37800
vlCDR2	YASNRYT	37801
vlCDR3	QDYSSEPYT	37802
scFv	QQQLVOSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYWIGWVROAPGQGLEMMGNFYPGSSNTYYNEKFOGRVTMTADKSI STAYMELSRRLRSDDTAVYFCARHYGTNRYRFDWAGTLTVVSS / GKPGSCKPGSGKPGSGKES / DIVLTIQSPGP LSLSPGERATLSCRASSOSVSNDVAVYQQKPGQSPLIYIASNRYTGVFDRTGSGYGTDFLTISRLFEEDFAVY FCQDYSSEPYTEGGGTKEIK	37803

Figura 10A [CTLA-4]_H0_25_L0 secuencias Fv anti-CTLA-4 (XENP19235 Fab, XENP19769 scFv)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVSEGGVVQEGESIRLSCAASGFTESSYAMHWVROAEGKLEWTTSYDERRNKKYADSVKGRTISRDNNSKNTL YIQQNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQQTIVVSS	37804
vhCDR1	SYAMA	37805
vhCDR2	FISYDGNNKKYADSVKG	37806
vhCDR3	TGMLGPEDY	37807
Enlazadores de scFv	GKPGSKPKPSGKPSGKPSGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQVGSSYLAQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDFITLTISRL EPEDFAVYCCQYGSPEWTFQGQTKEIK	37808
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37809
vlCDR2	GAESRAT	37810
vlCDR3	QQYGSSEWT	37811
scFv	QVQLVSEGGVVQEGESIRLSCAASGFTESSYAMHWVROAEGKLEWTTSYDGNKKYADSVKGRTISRDNNSKNTL YIQQNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQQTIVVSS/GKPGSKPKPSGKPSGS/ELVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRASQVGSSYLAQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDFITLTISRLPEDFAVYCCQYGSSEW TFQGQTKEIK/	37812

Figura 10B [CTLA-4]_H0_26_L0 secuencias Fv anti-CTLA-4 (XENP19236 Fab, XENP19770 scFv)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVSEGGVVQEGESIRLSCAASGFTESSYAMHWVROAEGKLEWTTSYDGNKKYADSVKGRTISRDNNSKNTL YIQQNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQQTIVVSS	37813
vhCDR1	SYAMA	37814
vhCDR2	FISYDGNNKKYADSVKG	37815
vhCDR3	TGMLGPEDY	37816
Enlazadores de scFv	GKPGSKPKPSGKPSGKPSGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQVGSSYLAQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDFITLTISRL EPEDFAVYCCQYGSPEWTFQGQTKEIK	37817
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37818
vlCDR2	GAESRAT	37819
vlCDR3	QQYGSSEWT	37820
scFv	QVQLVSEGGVVQEGESIRLSCAASGFTESSYAMHWVROAEGKLEWTTSYDGNKKYADSVKGRTISRDNNSKNTL YIQQNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQQTIVVSS/GKPGSKPKPSGKPSGS/ELVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRASQVGSSYLAQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDFITLTISRLPEDFAVYCCQYGSSEW TFQGQTKEIK	37821

Figura 10C [CTLA-4]_H0_27_L0 secuencias Fv anti-CTLA-4 (XENP19237 Fab, XENP19771 scFv)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	CYOLVE3GGGVVQPGRLSLRSCAASGETESSYYSYKLEWWTISYDGNKYYADSVKGRETISRDNSKNT LYLQMNNSRAEDTAYYCARTGNLGPFDYNGQGTINIVSS	37822
vhCDR1	SYSMH	37823
vhCDR2	2ISYDGNNKYYADSVKG	37824
vhCDR3	TGWLGPEDY	37825
Enlazadores de scFv	QKPGSGCKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSYTLAWYQQKPGQAPRLITYGAFSRVAGIGIPDRSGSGSTDFLTLTISR LEPEDEAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKEIK	37826
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37827
vlCDR2	GAFSRAT	37828
vlCDR3	QQYGSSPWT	37829
scFv	CYOLVE3GGGVVQPGRLSLRSCAASGETESSYYSYKLEWWTISYDGNKYYADSVKGRETISRDNSKNT LYLQMNNSRAEDTAYYCARTGNLGPFDYNGQGTINIVSS / QKPGSGCKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLITYGAFSRVAGIGIPDRSGSGSTDFLTLTISRLEPEDEAVYYCQQYGS SEWTFGQGTKEIK	37830

Figura 10D [CTLA-4]_H0_29_L0 Fab XENP19773, scFv XENP19239

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)		
vhCDR1		
vhCDR2		
vhCDR3		
Enlazadores de scFv	QKPGSGCKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)		
vlCDR1		
vlCDR2		
vlCDR3		
scFv	CYOLVE3GGGVVQPGRLSLRSCAASGETESSYYSYKLEWWTISYDGNKYYADSVKGRETISRDNSKNT LYLQMNNSRAEDTAYYCARTGNLGPFDYNGQGTINIVSS / QKPGSGCKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLITYGAFSRVAGIGIPDRSGSGSTDFLTLTISRLEPEDEAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKEIK	37831

Figura 10E [CTLA-4]_H0.38_10 (Fab XENP19248, scFv XENP19782)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVEGGVVQPGRLRSLCAASGFTTSSYTMHWVRQAPGKLEWVAFTSYDGNNKYAADSVKGRFTISRNNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQTLTVSS	37832
vhCDR1	SYTMH	37833
vhCDR2	EISYDGNKKYAYADSVKG	37834
vhCDR3	TGWLGPEDY	37835
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	
Dominio ligero variable (vl)	EIVLHQSEGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGSSYIAYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRSGSGSTDTLTISRL EPEDAVYCCQYCSSSEWTFGQGTKEIK	37708
vlCDR1	RASQSVGSYLA	37837
vlCDR2	GAFSRAT	37838
vlCDR3	QCYGSSEWT	37839
scFv	QVQLVEGGVVQPGRLRSLCAASGFTTSSYTMHWVRQAPGKGLEWVAFTSYDGNNKYAADSVKGRFTISRNNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQTLTVSS/S/KPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLHQSEGTLSSLSPGER ATLSCRASQSVGSSYIAYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRSGSGSTDTLTISRLPEDEAVYCCQYCQYGSSPW TFFGQGTKEIK/	37840

Figura 10F [CTLA-4]_H0.39_10 (Fab XENP19249, scFv XENP19783)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVEGGVVQPGRLRSLCAASGFTTSSYTMHWVRQAPGKLEWVAFTSYDGNNKYAADSVKGRFTISRNNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQTLTVSS	37841
vhCDR1	SYTMH	37842
vhCDR2	EISYDGNKKYAYADSVKG	37843
vhCDR3	TGWLGPEDY	37844
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	
Dominio ligero variable (vl)	EIVLHQSEGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGSSYIAYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRSGSGSTDTLTISRL EPEDAVYCCQYCSSSEWTFGQGTKEIK	37708
vlCDR1	RASQSVGSYLA	37845
vlCDR2	GAFSRAT	37846
vlCDR3	QCYGSSEWT	37847
scFv	QVQLVEGGVVQPGRLRSLCAASGFTTSSYTMHWVRQAPGKLEWVAFTSYDGNNKYAADSVKGRFTISRNNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQTLTVSS/S/KPGSGKPGSGKPGS/EIVLHQSEGTLSSLSPGER ATLSCRASQSVGSSYIAYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRSGSGSTDTLTISRLPEDEAVYCCQYCQYGSSPW TFFGQGTKEIK/	37849

Figura 10G [CTLA-4]_H0.40_L0 (Fab XENP19250, scFv XENP19784)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVEGGVVQPGRSRLSCAASGETSSYTMHWYRQAPGKGLEWVSEISYDGNNRYADSVKGRFTISDRNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTIVTVSS	37850
vhCDR1	SYTMH	37851
vhCDR2	EISYDGNNKYADSVKG	37852
vhCDR3	TGWLGPFDY	37853
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAQSQVGSSYLA WYQQKPGQAPRLLYGAESRAICIPDRFSGCSGSGTIDFTLTISRLPEIFAVYYCQQYCGSSPN	37854
VLCDR1	EPEDEFAVYYCQQYGSSEWTFGQGTKEIK	37855
VLCDR2	GAFSRAT	37856
VLCDR3	QQYGSSEWT	37857
scFv	QVQLVEGGVVQPGRSRLSCAASGETSSYTMHWYRQAPGKGLEWVSEISYDGNNRYADSVKGRFTISDRNSKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTIVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRAQSQVGSSYLA WYQQKPGQAPRLLYGAESRAICIPDRFSGCSGSGTIDFTLTISRLPEIFAVYYCQQYCGSSPN TPEFGQGTKEIK	37858

Figura 10H [CTLA-4]_H0.70_L0 (Fab XENP19280, scFv XENP19818)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLVEGGVVQPGRSRLSCAASGETSSYTMHWYRQAPGKGLEWVSEISYDGNNRYADSVKGRFTISDRNSKNT YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTIVTVSS	37859
vhCDR1	SYTMH	37860
vhCDR2	EISYDGNNKYADSVKG	37861
vhCDR3	TGWLGPFDY	37862
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAQSQVGSSYLA WYQQKPGQAPRLLYGAESRAICIPDRFSGCSGSGTIDFTLTISRLPEIFAVYYCQQYCGSSPN TPEFGQGTKEIK	37863
VLCDR1	RASQVSSESSYLA	37864
VLCDR2	GAFSRAT	37865
VLCDR3	QQYGSSEWT	37866
scFv	QVQLVEGGVVQPGRSRLSCAASGETSSYTMHWYRQAPGKGLEWVSEISYDGNNRYADSVKGRFTISDRNSKNT YLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTIVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRAQSQVGSSYLA WYQQKPGQAPRLLYGAESRAICIPDRFSGCSGSGTIDFTLTISRLPEIFAVYYCQQYGS SEWTFGQGTKEIK	37867

Figura 10I [CTLA-4] H0 L0.22 (Fab XENP19437, scFv XENP19910)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLNESGGGVWQPGGSLRLSCAAGSGETSSYTMHWVIRQAPGKLEWVTEISYDGNNKKYADSVVKGRFTTSRDRNSKNT LYLQMNSLRRAEDTAIYCARTRGWLSPDYMCGEILVIVSS	37868
vhCDR1	SYTEH	37869
vhCDR2	EISYDGNNKKYADSYFG	37870
vhCDR3	TGWLGPFDY	37871
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASCSVSSSYLAWQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFSGSGSGTDTITISR LEPEDFAVYCCQYGSSPWTFGQGTKEIK RASQSYGSVSYLA	37872
vlCDR1	GAFSRAT	37873
vlCDR2	QOYGSSPWT	37874
vlCDR3	QVQLVESEGGGVWQPGGSLRLSCAAGSGETSSYTMHWVIRQAPGKLEWVTEISYDGNNKKYADSVVKGRFTTSRDRNSKNT LYLQMNSLRRAEDTAIYCARTRGWLSPDYMCGEILVIVSS (GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG / EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASCSVSSSYLAWQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFSGSGSGTDTITISRLEEDFAVYCCQYGS SPWTFGQGTKEIK	37875

Figura 10J [CTLA-4] H2_L0 (Fab XENP, 19545 scFv XENP19552)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAGSGETSSYTMHWVIRQAPGKLEWVTEISYDGNNKKYYPGSVKGRFTTSRDRNSKNS LYLQMNSLRRAEDTAIYCARTRGWLSPDYMCGEILVIVSS	37877
vhCDR1	SYTEH	37878
vhCDR2	EISYDGNNKKYYPGSVKG	37879
vhCDR3	TGWLGPFDY	37880
Enlazadores de scFv	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASCSVSSSYLAWQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFSGSGSGTDTITISR LEPEDFAVYCCYXGSSPWTFGQGTKEIK RASQSYGSVSYLA	37881
vlCDR1	GAFSRAT	37882
vlCDR2	QOYGSSPWT	37883
vlCDR3	EVQLVESECCLVQPGGSLRLSCAAGSGETSSYTMHWVIRQAPGKLEWVTEISYDGNNKKYYPGSVKGRFTTSRDRNSKNS LYLQMNSLRRAEDTAIYCARTRGWLSPDYMCGEILVIVSS (GKPGSGKPGSGKPGSG / EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASCSVSSSYLAWQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFSGSGSGTDTITISRLEEDFAVYCCQYGS SPWTFGQGTKEIK	37885

Figura 10K [CTLA-4] H3.21 L0.124 (Fab XENP20422, scFv XENP20431)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVESEGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFESSYIMHWYRQAPKGKLEWTSISYDGNTKYYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMASLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGGTIVVSS	37886
vhCDR1	SYTEH	37887
vhCDR2	EISYDENTKYYYADSVRG	37888
vhCDR3	GGLLGPEFL	37889
Enlazadores de scFv	CKPGSCKPGSCKPGSCKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVITQSPATLSSPGERATLSSCRASQSYGSSYIAYWQQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFGSGSGTDEFTLTISR LEPEDFAVYYCOOYGSSPWTFFQQGTVKEIK RASQSVGSSYLA	37890
vlCDR1		37891
vlCDR2	GASSRAT	37892
vlCDR3	QGYGSSSPWT	37893
scFv	EVOLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFESSYIMHWYRQAPKGKLEWTSISYDGNTKYYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMASLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGGTIVVSS / GKEGSEKADGSGKESSCKPGS / EIVLTQSPATLSSVSPG ERATLSSCRASQSYGSSYIAYWQQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFGSGSGTDEFTLTISRILEDFAVYYCQOYGS SPWTFFQQGTVKEIK	37894

Figura 10L [CTLA-4] H3.21 L0.129 (Fab XENP20423, scFv XENP20432)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFESSYIMHWYRQAPKGKLEWTSISYDGNTKYYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMASLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGGTIVVSS	37895
vhCDR1	SYTEH	37896
vhCDR2	EISYDENTKYYYADSVKG	37897
vhCDR3	GGLLGPEFL	37898
Enlazadores de scFv	CKPGSCKPGSCKPGSCKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVITQSPATLSSPGERATLSSCRASQSYGSSYIAYWQQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFGSGSGTDEFTLTISR LEPEDFAVYYCOOYGSSPWTFFQQGTVKEIK RASQSVGSSYLA	37899
vlCDR1		37900
vlCDR2	GASSRAT	37901
vlCDR3	QGYGSSSPWT	37902
scFv	EVOLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFESSYIMHWYRQAPKGKLEWTSISYDGNTKYYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMASLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGGTIVVSS / GKEGSEKADGSGKESSCKPGS / EIVLTQSPATLSSVSPG ERATLSSCRASQSYGSSYIAYWQQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFGSGSGTDEFTLTISRILEDFAVYYCQOYGS SPWTFFQQGTVKEIK	37903

Figura 10M [CTLA-4]_H3_21_L0_132 (Fab XENP20424, scFv XENP20433)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLEVSGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSSYIHMWVROAPKGLEWVFISYDENTKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWQGTIVVSS	37904
vhCDR1	SYTMH	37905
vhCDR2	FISYDGNKYADSVKG	37906
vhCDR3	GGLGPPDL	37907
Enlazadores de scFv	SKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISR LEPEDEAVYYCQYGSSEFWTFGQTKVEIK	37908
vlCDR1	RASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISR	37909
vlCDR2	GASSRAT	37910
vlCDR3	QQYGSSEWT	37911
scFv	EVOLVESGGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSSYIHMWVROAPKGLEWVFISYDENTKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWQGTIVVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISRLEPEDEAVYYCQYGS SPWTFEGQTKVEIK	37912

Figura 10N [CTLA-4]_H3_23_L0_124 (Fab XENP20425, scFv XENP20434)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLEVSGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSSYIHMWVROAPKGLEWVFISYDENTKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWQGTIVVSS	37913
vhCDR1	SYTMH	37914
vhCDR2	FISYDGNKYADSVKG	37915
vhCDR3	GGLGPPDL	37916
Enlazadores de scFv	6KPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISR LEPEDEAVYYCQYGSSEFWTFGQTKVEIK	37917
vlCDR1	RASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISR	37918
vlCDR2	GASSRAT	37919
vlCDR3	QQYGSSEWT	37920
scFv	EVQLEVSGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSSYIHMWVROAPKGLEWVFISYDENTKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWQGTIVVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQVSSESYIANYQQKPGQAPRLLYGAASSRATGIPDRESGSGTDETTIISRLEPEDEAVYYCQYGS SPWTFEGQTKVEIK	37921

Figura 10O [CTLA-4]_H3.23_L0.129 (Fab XENP20426, scFv XENP20435)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLESGGGLVKPGGSRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAFGRKGLENVSFISYDNYKYYADSYKGRFTLSRDNAKS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHGLGPFDLWQGTIVTVSS	37922
vhCDR1	SYTMH EISYDNYKYYADSVKG	37923
vhCDR2	GCHLGPEDI	37924
vhCDR3	SEPKGSKPGCSKPGSKPGS	37925
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSSLSPGKPEEATLSCRSQSVESSYI LEELFIAVYYCQYGSSPWTFEGQTKVEIK RASQSVSSSYLA	37926
VLCDR1		37927
VLCDR2	GASSRAT	37928
VLCDR3	QQYGSSEWT	37929
scFv	EVQLESGGGLVKPGGSRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAFGRKGLEWVSEFISYDNYKYYADSYKGRFTLSRDNAKS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHGLGPEDLWQGTIVTVSS / GKPGSSEKPGCSKPGSKPGS/EIVLTQSPATLSSLSPG LEATLSCRSQSVESSYI SEWTFEGQTKVEIK	37930

Figure 10P [CTLA-4]_H3.23_L0.132 (Fab XENP20427, scFv XENP20436)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLESGGGLVKPGGSRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAFGRKGLENVSFISYDNYKYYADSYKGRFTLSRDNAKS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHGLGPEDLWQGTIVTVSS	37931
vhCDR1	SYTMH EISYDNYKYYADSVKG	37932
vhCDR2	GCHLGPEDI	37933
vhCDR3	SEPKGSKPGCSKPGSKPGS	37934
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSSLSPGKPEEATLSCRSQSVESSYI IEPEDTAVYYCQYGSSPWTFEGQTKVEIK RASQSVSSSYLA	37935
VLCDR1		37936
VLCDR2	GASSRAT	37937
VLCDR3	QQYGSSEWT	37938
scFv	EVQLESGGGLVKPGGSRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAFGRKGLEWVSEFISYDNYKYYADSYKGRFTLSRDNAKS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHGLGPEDLWQGTIVTVSS / GKPGSSEKPGCSKPGSKPGS/EIVLTQSPATLSSLSPG ERATLSCRSQSVESSYI SEWTFEGQTKVEIK	37939

Figura 10Q [CTLA-4]_H3.25_L0.124 (Fab XENP20428, scFv XENP20437)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVETSGGSLVKPGGSIRISCAASGETTSSYMMWVRQAPKGKLEWVSEI SYDNYKKYAUSTRVGRFTTSRDNAKNS LYLQMNNSLRAEDTAVYYCARGGLIGPDLWGGTMVTVS	37940
vhCDR1	SYTMH	37941
vhCDR2	EISYDNYKKYADSVKG	37942
vhCDR3	GGLAGPEDL	37943
Enlazadores de scFv	GPXPGS3KPGSSCKPGSSCKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSEGERATLSCRASOSVGS SYLAWIQQKPQAPRLLIYGAASSRATGIPDRSGSGCTDETTITISR LEPEDEFAVYCOQYGSSEPPTEFGQTKVEIK RASOSVGS SYLIA	37944
vlCDR1		37945
vlCDR2	GASSRAT	37946
vlCDR3	QQYGSS3KPG	37947
scFv	EVOLVETSGGSLVKPGGSIRISCAASGETTSSYMMWVRQAPKGKLEWVSEI SYDNYKKYAUSTRVGRFTTSRDNAKNS LYLQMNNSLRAEDTAVYYCARGGLIGPDLWGGTMVTVS / GKPGS3KPGSSCKPGSSCKPGS / EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSCRASOSVGS SYLAWIQQKPQAPRLLIYGAASSRATGIPDRSGSGCTDETTITISR LEPEDEFAVYCOQYGS SEWHECGTKVEIK	37948

Figura 10R [CTLA-4] H3.25 L0.129 (Fab XENP20429, scFv XENP20438)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EYLVESSEGGGLVKPGGSRERLSCAASGETTSSYYTMHWYRQAPGKGLEWWFELSYDGNYKKYADSYGRFTISRDNAKNS LYLQMNNSLRAEDTAVYYCARGGLGEGFDLWQGSTMVTVSS	37949
vhCDR1	SYTMH	37950
vhCDR2	EIYSTDGNKYYADSYKG	37951
vhCDR3	GEGIGEPELI	37952
Enlazadores de scFv	QKPSSEGEFGSGKPGSSKGKFGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLISL2GERAILESCRASQSYGSYLA WYQKPGQAPRLIYGASSRAIGIPDRFSGSGSTDFTLFISR LEPDTIAVYVQOYQSSPWTIFGQSTKVEIK RASQSYVSSYLA	37953
vlCDR1		37954
vlCDR2	GASSRAT	37955
vlCDR3	QOYGSSEWT	37956
scFv	EYLVESSEGGCOLVKPGGSLRISCAASGETTSSYYTMHWYRQAPGKGLEWWFELSYDGNYKKYADSYGRFTISRDNAKNS LYLQMNNSLRAEDTAVYYCARGGLGEGFDLWQGSTMVTVSS / GKPGSCKBGSCKPGS / EIVLTQSPATLISLSPG ERATLSCRASQSYGSYLA WYQKPGQAPRLIYGASSRAIGIPDRFSGSGSTDFTLFITISREPEDFAYYQOYGS SEWTFGCTKVEIK	37957

Figura 10S [CTLA-4] H3.25_L0.132 (Fab XENP20430, scFv XENP20439)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVSEGGGLVKPGSSLRSLSCAASGETFSSYTMHWYRQAPKGLEWVSPFSSYDGNKYYAUSVKGRTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGQGTVIVSS	37958
vhCDR1	SYTHA	37959
vhCDR2	FISYDGNKYYADSVKG	37960
vhCDR3	GELIGPFDI	37961
Enlazadores de scFv	CKPGSSCKPGSSCKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA2RLIYGASERATGIPDRFGSSGSSTDFITISR LEPEDFAVYCOOYSSPWTFGQGTKEIK	37962
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	37963
vlCDR2	GAFSRAT	37964
vlCDR3	QQYGSSEWT	37965
scFv	EVQLVSEGGGLVKPGSSLRSLSCAASGETFSSYTMHWYRQAPKGLEWVSPFSSYDGNKYYAUSVKGRTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGLLGPFDLWGQGTVIVSS / GKPGSSCKPGSSCKPGS / EIVLTQSPATLSSLSPG ERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA2RLIYGASERATGIPDRFGSSGSSTDFITISR SEWEFGQGTKEIK	37966

Figura 10T [CTLA-4] H3.4 L0.118 (Fab XENP20341, scFv XENP20378)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVKPGSSLRSLSCAASGETFSSYTMHWYRQAPKGLEWVSPFSSYDGNKYYAUSVKGRTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGHGLGFEDLWGQGTVIVSS	37967
vhCDR1	SSYTHI	37968
vhCDR2	FISYDGNKYYADSVKG	37969
vhCDR3	TGHLGPFDI	37970
Enlazadores de scFv	CKPGSSCKPGSSCKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSSV2GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA2RLIYGASERATGIPDRFGSSGSSTDFITISR LEPEDFAVYCOOYSSPWTFGQGTKEIK	37971
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	37972
vlCDR2	GAFSRAT	37973
vlCDR3	QQYGSSEWT	37974
scFv	EVQLVSEGGGLVKPGSSLRSLSCAASGETFSSYTMHWYRQAPKGLEWVSPFSSYDGNKYYAUSVKGRTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGHGLGFEDLWGQGTVIVSS / GKPGSSCKPGSSCKPGS / EIVLTQSPATLSSLSPG ERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA2RLIYGASERATGIPDRFGSSGSSTDFITISR SEWFEGQGTKEIK	37975

Figura 10U [CTLA-4]_H3_4_L0.119 (Fab XENP20342, scFv XENP20379)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQIMESGG31VKPGGSRLSAAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSELYSDGNHKKYYADSVKGRETISRDNAKNISLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPDFTLGQSTKVEIK	37976
vhCDR1	SYTMH	37977
vhCDR2	ELSYDGNHKKYYADSVKG	37978
vhCDR3	TGHLCPEDL	37979
Enlazadores de scFv	GKEGSGKRGZGREGSKEGS	37980
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDPRFSGSGSGFTDFLTUTSRLEPEDE AVVYQQYQGSSPFTFGQSTKVEIK	37981
vlCDR1	RAQSQVSSYLA	37982
vlCDR2	GAFSRAT	37983
vlCDR3	QOYGSSPWT	37984
scFv	EVQLVTEGGGLVPRGSSLRLSAAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSELYSDGNHKKYYADSVKGRETISRDNAKNISLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPDFTLGQSTKVEIK VGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDPRFSGSGSGFTDFLTUTSRLEPEDEFAVYQQYQGSSPWTFGQSTKVEIK	37985

Figura 10V [CTLA-4]_H3_4_L0.12 (Fab XENP20071, scFv XENP20078)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVTEGGGLVPRGSSLRLSAAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSELYSDGNHKKYYADSVKGRETISRDNAKNISLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPDFTLGQSTKVEIK	37985
vhCDR1	SYTMH	37986
vhCDR2	EISYIGNHKKYYADSVKG	37987
vhCDR3	TGHLCPEDL	37988
Enlazadores de scFv	SKPSKSKGSKGSKGSKPS	37989
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDPRFSGSGSGFTDFLTUTSRLEPEDE AVVYQQYQGSSPWTFGQSTKVEIK	37990
vlCDR1	RAQSQVSSYLA	37991
vlCDR2	GAFSRAT	37992
vlCDR3	QOYGSSPWT	37993
scFv	EVQLVTEGGGLVPRGSSLRLSAAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSELYSDGNHKKYYADSVKGRETISRDNAKNISLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPDFTLGQSTKVEIK VGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDPRFSGSGSGFTDFLTUTSRLEPEDEFAVYQQYQGSSPWTFGQSTKVEIK	37993

Figura 10W [CTLA-4] H3.4 L0.121 (Fab XENP20344, scFv XENP20381)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLESGGGLVKGGSURISCAASGETESSYDMEHWRQAPGKLEWVSEIISYDGMEKYYADSVKGRFTISRDWAKNSLYIQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQTMVTVSS	37994
vhCDR1	SYTMH	37995
vhCDR2	EISYDHNHKYYADSVKG	37996
vhCDR3	TGHLPEDL	37997
Enlazadores de scFv	GREGSGREGSGKGSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQVSGSSYIAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPRFGSGSGTDFTLTISRLPEDEPEDE AVYVQQYQGSSPWTFGQGTKEIK	37998
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37999
vlCDR2	GASSRAT	38000
vlCDR3	QQYGSPEWT	38001
scFv	EVQLESGGGLVKGGSURISCAASGETESSYDMEHWRQAPGKLEWVSEIISYDGMEHYYADSVKGRFTISRDWAKNSLYIQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQTMVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYIAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPRFGSGSGTDFTLTISRLPEDEAVYVQQYQGSSPWTFGQGTKEIK	38002

Figura 10X [CTLA-4] H3.4 L0.122 (Fab XENP20345, scFv XENP20382)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLESGGGLVKGGSURISCAASGETESSYDMEHWRQAPGKLEWVSEIISYDGMEHYYADSVKGRFTISRDWAKNSLYIQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQTMVTVSS	38003
vhCDR1	SYTMH	38004
vhCDR2	EISYDHNHKYYADSVKG	38005
vhCDR3	TGHLPEDL	38006
Enlazadores de scFv	GREGSGREGSGKGSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQVSGSSYIAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPRFGSGSGTDFTLTISRLPEDEPEDE AVYVQQYQGSSPWTFGQGTKEIK	38007
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	38008
vlCDR2	GAFSRAT	38009
vlCDR3	QQYGSPEWT	38010
scFv	EVQLESGGGLVKGGSURISCAASGETESSYDMEHWRQAPGKLEWVSEIISYDGMEHYYADSVKGRFTISRDWAKNSLYIQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQTMVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYIAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPRFGSGSGTDFTLTISRLPEDEAVYVQQYQGSSPWTFGQGTKEIK	38011

Figura 10Y [CTLA-4] H3.4_L0.123 (Fab XENP20346, scFv XENP20383)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVEMSGGGLVKPGSSRLSLCAASGFTESSYTMHWRQAPGKGLEWVS <u>ELSYDENIRKYADSVK</u> ERETI SRDIAKNSLYLQMN SLLRAEDTAVYYCARTGHILGPE <u>DLWQGT</u> MVTVSS	38012
vhCDR1	SYTMH <u>E</u>	38013
vhCDR2	FISYDGHNHKY <u>YADSVK</u> G	38014
vhCDR3	TGHILGPE <u>D</u> L	38015
Enlazadores de scFv	<u>GKPGSSKGSKPGSKPGS</u>	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASO <u>SVSSSY</u> LA <u>WQQKPFQGQAPRLLYGAESRATGIP</u> PRFSS <u>GS</u> GTDF <u>FTL</u> TSRLE <u>PEDF</u> AVYYCQYGS <u>SPWT</u> FGQTKVEIK	38016
vlCDR1	RASQ <u>SVSSSY</u> LA	38017
vlCDR2	GAE <u>FT</u> A <u>T</u>	38018
vlCDR3	QGYGS <u>SEWT</u>	38019
scFv	EVOLVEMSGGGLVKPGSSRLSLCAASGFTESSYTMHWRQAPGKGLEWVS <u>ELSYDENIRKYADSVK</u> ERETI SRDIAKNSLYLQMN SLLRAEDTAVYYCARTGHILGPE <u>DLWQGT</u> MVTVSS/ <u>GKPGSSKGSKPGSKPGS</u> /EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASO <u>S</u> VSSSYLA <u>WQQKPFQGQAPRLLYGAESRATGIP</u> DRFSGSG <u>GS</u> GTDF <u>FTL</u> TSRLE <u>ZEDFAVYCCQYGSSEWTFGGT</u> KVEIK	38020

Figura 10Z [CTLA-4] H3.4_L0.124 (Fab XENP20347, scFv XENP20384)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVEMSGGGLVKPGSSRLSLCAASGFTESSYTMHWRQAPGKGLEWVS <u>ELSYDENIRKYADSVK</u> ERETI SRDIAKNSLYLQMN SLLRAEDTAVYYCARTGHILGPE <u>DLWQGT</u> MVTVSS	38021
vhCDR1	SYTMH <u>E</u>	38022
vhCDR2	FISYDGHNHKY <u>YADSVK</u> G	38023
vhCDR3	TGHILGPE <u>D</u> L	38024
Enlazadores de scFv	<u>GKPGSSKGSKPGSKPGS</u>	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASO <u>SVSSSY</u> LA <u>WQQKPFQGQAPRLLYGAESRATGIP</u> PRFSS <u>GS</u> GTDF <u>FTL</u> TSRLE <u>PEDF</u> AVYYCQYGS <u>SPWT</u> FGQTKVEIK	38025
vlCDR1	RASQ <u>SVSSSY</u> LA	38026
vlCDR2	GASSR <u>FT</u> A <u>T</u>	38027
vlCDR3	QGYGS <u>SPWT</u>	38028
scFv	EVOLVEMSGGGLVKPGSSRLSLCAASGFTESSYTMHWRQAPGKGLEWVS <u>ELSYDENIRKYADSVK</u> ERETI SRDIAKNSLYLQMN SLLRAEDTAVYYCARTGHILGPE <u>DLWQGT</u> MVTVSS/ <u>GKPGSSKGSKPGSKPGS</u> /EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASO <u>S</u> VSSSYLA <u>WQQKPFQGQAPRLLYGAESRATGIP</u> DRFSGSG <u>GS</u> GTDF <u>FTL</u> TSRLE <u>ZEDFAVYCCQYGSSEWTFGGT</u> KVEIK	38029

Figura 10AA [CTLA-4]_H3.4_L0.125 (Fab XENP20348, scFv XENP20385)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLEVESGGGLVKGSSLRSLCAASGETESSYTMHWVRQA2GGEGIENWSEISYDGNHKKYAGSVEKGRFTIISRDNAKNSLYLQMN SIRADETAVYYCARTGHLPEDLWQGTMVTVSS	38030
vhCDR1	SYTMH	38031
vhCDR2	EISYDGNHKKYADSVKG	38032
vhCDR3	TGHLPEDL	38033
Enlazadores de scFv	SKPGSGKPGSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSIISPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRAIGIEDRFGSGSGTIDELITISRLIEDPEAVYCCOYGSSWTFQQTKEIK	38034
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38035
vlCDR2	GASSRAT	38036
vlCDR3	QQYGSPEWT	38037
scFv	EVQLVEGGGLVKGSSLRSLCAASGETESSYTMHWVRQA2PGKGLEWVSEISYDGNHKKYTAIDSVKGRTFIISRDNAKNSLYLQMN SIRADETAVYYCARTGHLPEDLWQGTMVTVSS / SKPGSGKPGSKPGSKPGS / EIVLTQSPGTLSIISPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRAIGIEDRFGSGSGTIDELITISRLIEDPEAVYCCOYGSSWTFQQTKEIK	38038

Figura 10BB [CTLA-4]_H3.4_L0.1126 (Fab XENP20349, scFv XENP20386)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLEVESGGGLVKGSSLRSLCAASGETESSYTMHWVRQA2PGKGLEWVSEISYDGNHKKYADSVKGRTFIISRDNAKNSLYLQMN SIRADETAVYYCARTGHLPEDLWQGTMVTVSS	38039
vhCDR1	SYTMH	38040
vhCDR2	EISYDGNHKKYADSVKG	38041
vhCDR3	TGHLPEDL	38042
Enlazadores de scFv	SKPGSGKPGSKPGSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSIISPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRAIGIEDRFGSGSGTIDELITISRLIEDPEAVYCCOYGSSWTFQQTKEIK	38043
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38044
vlCDR2	GASSRAT	38045
vlCDR3	QQYGSPEWT	38046
scFv	EVQLVEGGGLVKGSSLRSLCAASGETESSYTMHWVRQA2PGKGLEWVSEISYDGNHKKYADSVKGRTFIISRDNAKNSLYLQMN SIRADETAVYYCARTGHLPEDLWQGTMVTVSS / SKPGSGKPGSKPGSKPGS / EIVLTQSPGTLSIISPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRAIGIEDRFGSGSGTIDELITISRLIEDPEAVYCCOYGSSWTFQQTKEIK	38047

Figura 10CC [CTLA-4]_H3.4_L0.127 (Fab XENP20350, scFv XENP20387)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVOVLESGGGTIVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMWQAPKGLEWSEISYDGNHRYYADSYKGRFTISRDNAKNLYLQMN SIRAEDEAVYYCARTGHGLPEDIWGQSTMVTVSS	38048
vhCDR1	SYTMH EISYDGNHRYYADSYK	38049
vhCDR2	TGHIGPEDL	38050
vhCDR3	GKPGSGKPGSGKGSCKEGS	38051
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVVLTQSEGTLVSISGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAFRLIYGAASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEPDE AVYYCQQYGSSEPTFQQTGVIEIK	38052
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38053
vlCDR2	GAFSRAT	38054
vlCDR3	QQYGSSEPT	38055
scFv	EVOVLESGGGILVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMWQAPKGLEWSEISYDGNHRYYADSYKGRFTISRDNAKNLYLQMN SIRAEDEAVYYCARTGHGLPEDIWGQSTMVTVSS / GKPGSGKPGSGKGSCKEGS / EIVVLTQSEGTLVSISGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAFRLIYGAASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEPDEFAVYYCQQYGSSEPTFQQTGVIEIK	38056

Figura 10DD [CTLA-4]_H3.4_L0.128 (Fab XENP20351, scFv XENP20388)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVOVLESGGGTIVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMWQAPKGLEWSEISYDGNHRYYADSYKGRFTISRDNAKNLYLQMN SIRAEDEAVYYCARTGHGLPEDIWGQSTMVTVSS	38057
vhCDR1	SYTMH EISYDGNHRYYADSYK	38058
vhCDR2	TGHIGPEDL	38059
vhCDR3	GKPGSGKPGSGKGSCKEGS	38060
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVVLTQSPATLVSISGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAFRLIYGAASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEPDE AVYYCQQYGSSEPTFQQTGVIEIK	38061
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38062
vlCDR2	GAFSRAT	38063
vlCDR3	QQYGSSEPT	38064
scFv	EVOVLESGGGILVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMWQAPKGLEWSEISYDGNHRYYADSYKGRFTISRDNAKNLYLQMN SIRAEDEAVYYCARTGHGLPEDIWGQSTMVTVSS / GKPGSGKPGSGKGSCKEGS / EIVVLTQSPATLVSISGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAFRLIYGAASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEPDEFAVYYCQQYGSSEPTFQQTGVIEIK	38065

Figura 10EE [CTLA-4] H3.4 10.129 (Fab XENP20352, scFv XENP20389)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)		
vhCDR1		37708
vhCDR2		38066
vhCDR3		38069
Enlazadores de scFv		
Dominio ligero variable (vl)	EVQLVEGGGLYKPGSIRLSCAASGFTESSYIMWVQAPKGLEWVFISYDGNHKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYCACTGHIGEFDLMQGTMTVSS	38070
VLCDR1	SYTMH	38067
VLCDR2	FISYDGNHKKYTAWSVIG	38068
VLCDR3	TGHIGPFDL	
scFv	EVQLVEGGGLYKPGSIRLSCAASGFTESSYIMWVQAPKGLEWVFISYDGNHKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYCACTGHIGEFDLMQGTMTVSS/GKPGSSKPQGSCKPGSCKPGS/EIVITQSPATLSSLSPGERATLSCRAS QSWSGSYIAYQQKPCQAPRILLYGASSRATGIPURESGSGSGCTDTLFLISRKEPEDFAVYCCQYGSSPPWFEGQGTKVIEK	

Figura 10FF [CTLA-4 H3.4 L0.130 (Fab XENP20353, scFv XENP20390)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQIVSEGGLYKPGASLRLSCAASGETESSYTMMH WVQAFGKGLEWVSFISYDGNHKKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGH LGEFDIWLWGQSTMTVSS	38071
vhCDR1	SYTMEL	38072
vhCDR2	FISYDGNHKKYADSVRG	38073
vhCDR3	TGHIGPFDL	38074
Enlazadores de scFv	GKPGSCKPGSCFGPSKGPS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLSSVSPGERATLSCRASQSSSYLAWYQQE PGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFETLTHSRLEPED PAVYYCCQYGSSEWTFQGQTKEIK	38075
VLCDR1	RASSVSSSYLA	38076
VLCDR2	GASSRAT	38077
VLCDR3	QQVSSSSPEW	38078
scFv	EYQIVSEGGLYKPGASLRLSCAASGETESSYTMMH WVQAFGKGLEWVSFISYDGNHKKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGH LGEFDIWLWGQSTMTVSS QSVSSSYLAWYQQE PGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFETLTHSRLEPED TAVYYCCQYGSSEWTFQGQTKEIK	38079

Figura 10GG [CTLA-4]_H3.4_L0.131 (Fab XENP20354, scFv XENP20391)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVTESEGGGLVPRGSSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSEIISYDGNHKYYADSVKRFITSRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQGTMVTYSS	38080
vhCDR1	SYTMH FISYDGNHKYYADSVKG	38081
vhCDR2	TGHLPFDL	38082
vhCDR3	TGHLPFDL	38083
Enlazadores de scFv	SKPESKEGSKEGSKEGSKES	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLISLSPGERATLSCRASQVSSSSYLAWYQQKPGQAPRLLTYGASSRATGIPDRFSGSGSFTDTTLTISLEPED FAYVYQOYQGSSPNTFGQGTVKEIK	38084
vlCDR1	BASQVSSSYLA	38085
vlCDR2	GASSRAT	38086
vlCDR3	QQYGSPPNT	38087
scFv	EIVLVESGCCSLVKPGSSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSEIISYDGNHKYYADSVKRFITSRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQGTMVTYSS/GKPGSSEKPGSKPGSKES/EIVLTQSGTILSLSFGERATLSCRAS QSWSNSYLAWYQQKPGQAPRLLTYGASSRATGIPDRFSGSGSFTDTTLTISLEPEDFAVYVCCQYQGSSPNTFGQGTVKEIK	38088

Figura 10HH [CTLA-4]_H3.4_L0.132 (Fab XENP20355, scFv XENP20392)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EIVLVESGCCSLVKPGSSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSEIISYDGNHKYYADSVKRFITSRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQGTMVTYSS	38089
vhCDR1	SYTMH FISYDGNHKYYADSVKG	38090
vhCDR2	TGHLPFDL	38091
vhCDR3	TGHLPFDL	38092
Enlazadores de scFv	SKPESKEGSKEGSKEGSKES	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPATLISLSPGERATLSCRASQVSSSSYLAWYQQKPGQAPRLLTYGASSRATGIPDRFSGSGSFTDTTLTISLEPED FAYVYQOYQGSSPNTFGQGTVKEIK	38093
vlCDR1	BASQVSSSYLA	38094
vlCDR2	GASSRAT	38095
vlCDR3	QQYGSPPNT	38096
scFv	EIVLVESGCCSLVKPGSSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSEIISYDGNHKYYADSVKRFITSRDNAKNSLYQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLPEDLWGQGTMVTYSS/GKPGSSEKPGSKPGSKES/EIVLTQSGTILSLSFGERATLSCRAS QSWSNSYLAWYQQKPGQAPRLLTYGASSRATGIPDRFSGSGSFTDTTLTISLEPEDFAVYVCCQYQGSSPNTFGQGTVKEIK	38097

Figura 10II [CTLA-4]_H3.5_L2.1 (Fab XENP20357, scFv XENP20394)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVGIVESGGGLVKGSSLRLSCAASGETFESSYTMHWRQAPGKGLEWSELSYDENTKYADSVKRFITSRDNAXNSLYQM NISRAEDTAVIYCAARTGHLPEDLWGQTMVTVSS	38098
vhCDR1	SYTMH	38099
vhCDR2	EISYDNTKYADSVKG	38100
vhCDR3	TGHLPEDL	38101
Enlazadores de scFv	GKEPSGSGKESGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVMTCQSPATLSVSPGERATLSCRASQEVSSSYLAWYQQKPGQAFLTYGAERATEIPARFEGSGSGTEFLTISQSED EAVYICQOYQGSSSEWTFGQSTKVEIK	38102
vlCDR1	RASQSYSSSYLA	38103
vlCDR2	GAFSEAT	38104
vlCDR3	QYGSSEWT	38105
scFv	EVGIVESGGGLVKGSSLRLSCAASGETFESSYTMHWRQAPGKGLEWSELSYDENTKYADSVKRFITSRDNAXNSLYQM NISRAEDTAVIYCAARTGHLPEDLWGQTMVTVSS/GKPGSSCKPGCGKPGCGES/EIVMTCQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSYGSQSYLAWYQQKPGQAFLTYGAERATEIPARFEGSGSGTEFLTISQSED EAVYICQOYQGSSSEWTFGQSTKVEIK	38106

Figura 10JJ [CTLA-4]_H3.5_L2.2 (Fab XENP20358, scFv XENP20395)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVGIVESGGGLVKGSSLRLSCAASGETFESSYTMHWRQAPGKGLEWSELSYDENTKYADSVKRFITSRDNAXNSLYQM NISRAEDTAVIYCAARTGHLPEDLWGQTMVTVSS	38107
vhCDR1	SYTMH	38108
vhCDR2	EISYDNTKYADSVKG	38109
vhCDR3	TGHLPEDL	38110
Enlazadores de scFv	GKEPSGSGKESGKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVMTCQSPATLSVSPGERATLSCRASQEVSSSYLAWYQQKPGQAFLTYGAERATEIPARFEGSGSGTEFLTISQSED EAVYICQOYQGSSSEWTFGQSTKVEIK	38111
vlCDR1	RASQSYSSSYLA	38112
vlCDR2	GASSRAI	38113
vlCDR3	QYGSSEWT	38114
scFv	EVGIVESGGGLVKGSSLRLSCAASGETFESSYTMHWRQAPGKGLEWSELSYDENTKYADSVKRFITSRDNAXNSLYQM NISRAEDTAVIYCAARTGHLPEDLWGQTMVTVSS/GKPGSSCKPGCGKPGCGES/EIVMTCQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSYGSQSYLAWYQQKPGQAFLTYGAERATEIPARFEGSGSGTEFLTISQSED EAVYICQOYQGSSSEWTFGQSTKVEIK	38115

Figura 10KK [CTLA-4]_H3_5_L2.3 (Fab XENP20359, scFv XENP20396)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQVLESGGGIVVKPGGSIRLSCAASGETFESSYTMHWVRQAPGKGLEWSEIISYDGNKYYADSVGRFTIISDNIAKNSLYQM NSLRAEDIATAVVYCARTRGHLGPEDIMWCGTMTVSS	38116
vhCDR1	SYTMH	38117
vhCDR2	EISYDGNKYYADSVKG	38118
vhCDR3	TGHICPFDY	38119
Enlazadores de scFv	SKEPSKPGSSKPGSSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVVITQSPGILSISPGERATLSCRASQSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTFTTISLTISSQED	38120
vlCDR1	RASQNSSSSYLA	38121
vlCDR2	GAFSRAT	38122
vlCDR3	QQYGSSEWT	38123
scFv	EVQVLESGGGIVVKPGGSIRLSCAASGETFESSYTMHWVRQAPGKGLEWSEIISYDGNKYYADSVGRFTIISDNIAKNSLYQM NSLRAEDIATAVVYCARTRGHLGPEDIMWCGTMTVSS/SKEEGSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGS OSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTFTTISLTISSQEDTAVVYCXQYGSSEWTGQGTVKVEIK	38124

Figura 10LL [CTLA-4]_H3_L0 (Fab XENP19546, scFv XENP19553)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQVLESGGGIVVKPGGSIRLSCAASGETFESSYTMHWVRQAPGKGLEWSEIISYDGNKYYADSVGRFTIISDNIAKNSLYQM NSLRAEDIATAVVYCARTRGHLGPEDIMWCGTMTVSS	38125
vhCDR1	SYTMH	38126
vhCDR2	EISYDGNKYYADSVKG	38127
vhCDR3	TGHICPFDY	38128
Enlazadores de scFv	SKEPSKPGSSKPGSSKPGS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVVITQSPGILSISPGERATLSCRASQSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTFTTISLTISSQED	38129
vlCDR1	RASQNSSSSYLA	38130
vlCDR2	GAFSRAT	38131
vlCDR3	QQYGSSEWT	38132
scFv	EVQVLESGGGIVVKPGGSIRLSCAASGETFESSYTMHWVRQAPGKGLEWSEIISYDGNKYYADSVGRFTIISDNIAKNSLYQM NSLRAEDIATAVVYCARTRGHLGPEDIMWCGTMTVSS/SKEEGSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGSSKPGS OSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTFTTISLTISSQEDTAVVYCXQYSSSEWTGQGTVKVEIK	38133

Figura 10MM [CTLA-4]_H3_L0_22 (Fab XENP20011)

Qué	Secuencia	Id de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSELTSDNKKYYADSVKGRTIISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVVYCAR <u>TGIGPFDY</u> QYQGQTLYTVSS	38134
vhCDR1	SYTMH	38135
vhCDR2	EISYDGNNKKYYADSVKG	38136
vhCDR3	TGIGPFDY SKPGSCKEGSGKPGS	38137
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSI <u>S</u> PGERATLSCRASQSVSSSYI <u>W</u> YQKPGQAPRLTYGA <u>F</u> STRATGTFBRS <u>G</u> SG <u>C</u> HT <u>T</u> PT <u>T</u> SR <u>E</u> PE <u>D</u> FAV YYCQYQGSSPWT <u>T</u> FGQGTKEIK	38138
vlCDR1	RASOSVSSSYIA	38139
vlCDR2	GAFSRAT	38140
vlCDR3	QYQGSSPWT	38141
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSELTSDNKKYYADSVKGRTIISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVVYCAR <u>TGIGPFDY</u> QYQGQTLYTVSS/ SKPGSCKPGSGKPGS <u>T</u> FGQGTKEIK	38142
scFv	EIVLTQSPGTLSI <u>S</u> PGERATLSCRASQSVSSSYI <u>W</u> YQKPGQAPRLTYGA <u>F</u> STRATGTFBRS <u>G</u> SG <u>C</u> HT <u>T</u> PT <u>T</u> SR <u>E</u> PE <u>D</u> FAV SGSG <u>T</u> FG <u>C</u> HT <u>T</u> LE <u>P</u> ED <u>A</u> V <u>V</u> Y <u>C</u> QY <u>G</u> SS <u>P</u> WT <u>T</u> FGQGTKEIK	38143

Figura 10NN [CTLA-4]_H3_L0_44 (Fab XENP20052)

Qué	Secuencia	Id de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSELTSDNKKYYADSVKGRTIISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVVYCAR <u>TGIGPFDY</u> QYQGQTLYTVSS	38143
vhCDR1	SYTMH	38144
vhCDR2	EISYDGNNKKYYADSVKG	38145
vhCDR3	TGIGPFDY	38146
Enlazadores de scFv		37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSI <u>S</u> PGERATLSCRASQSVSSSYI <u>W</u> YQKPGQAPRLTYGA <u>F</u> STRATGTFBRS <u>G</u> SG <u>C</u> HT <u>T</u> PT <u>T</u> SR <u>E</u> PE <u>D</u> FAV YYCQYQGSSPWT <u>T</u> FGQGTKEIK	38147
vlCDR1	RASOSVSSSYIA	38148
vlCDR2	GAFSRAT	38149
vlCDR3	QYQGSSPWT	38150
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSELTSDNKKYYADSVKGRTIISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVVYCAR <u>TGIGPFDY</u> QYQGQTLYTVSS/ YLSWYQKPGQAPRLTYGA <u>F</u> STRATGTFBRS <u>G</u> SG <u>C</u> HT <u>T</u> PT <u>T</u> SR <u>E</u> PE <u>D</u> FAV <u>V</u> Y <u>C</u> QY <u>G</u> SS <u>P</u> WT <u>T</u> FGQGTKEIK	38151

Figura 10OO [CTLA-4] H3 L0 67 (Fab XENP20018)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVEGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRAQAPKGLEWVSTIEXTGNKYYADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNL RAEDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQSTLVIVSS	38152
vhCDR1	SYTMH	38153
vhCDR2	FISYDGNKKYAYDSVKG	38154
vhCDR3	TGWLGEDY GPKGSCKPGCGEGSKPGCS	38155
Enlazadores de scFv	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	38156
vlCDR1	RASQSVSSSYLA DAFSRAT	38157
vlCDR2	DAFSRAT	38158
vlCDR3	QOYGSSEPT	38159
scFv	EVOLVEGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRAQAPKGLEWVSTIEXTGNKYYADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNL RAEDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQSTLVIVSS / EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	38160

Figura 10PP [CTLA-4] H3 L0 74 (Fab XENP20020)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVEGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRAQAPKGLEWVSTIEXTGNKYYADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNL RAEDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQSTLVIVSS	38161
vhCDR1	SYTMH	38162
vhCDR2	FISYDGNKKYAYDSVKG	38163
vhCDR3	TGWLGEDY	38164
Enlazadores de scFv	GPKGSCKPGCGEGSKPGCS	37708
Dominio ligero variable (vl)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	38165
vlCDR1	RASQSVSSSYLA GAYSRAT	38166
vlCDR2	QOYGSSEPT	38167
vlCDR3	EVQLESGGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRAQAPKGLEWVSTIEXTGNKYYADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNL RAEDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQSTLVIVSS / EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	38168
scFv	EVQLESGGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTESSYTMHWVRAQAPKGLEWVSTIEXTGNKYYADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNL RAEDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQSTLVIVSS / EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASOSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLYDFTLTISRLPEPEDFAV YCCQQYGSSEPTFEGQTKVEIK	38169

Figura 11A
7G8_H3.30_L1.34 (Fab XENP22594)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVESGGGLWQPGGSLRLISCAASGFTFDDAWMSWVROAPGKGLEWAELISTKANNHATYYAESVK GRTIISRDDSCKSSVYQLQMNLSRAEDTAVYCTRIATWDYEDVWQGQTIVVSS	38170
vhCDR1	DAMMS	38171
vhCDR2	EISTKANNHATYYAESVKG	38172
vhCDR3	LATWDWYEDV	38173
Dominio ligero variable (vl)	DIVITQSPSSLSSASVGDRVITTCRASSQSYDGRSMMWYQQKPGKPPLKLTYAASELESGIPARFS GSGSGIDFLLTISLQPEDFATYYCQQSNEDPFIYSGKIEIK	38174
vlCDR1	RASQSVVDYDGSYMN	38175
vlCDR2	AASELES	38176
vlCDR3	QQSNEDEPT	38177

Figura 11B
2A11_H1.144_L2.142 (Fab XENP22656)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVQSGAEVKPGATVKISCKASGFNIKDYEMLWWQQAPGKGLEWMGNIDPELGDTTEYAPKEQGR VITIADTSTNTAYNELLSSLRSEDITAVYCYARGWYQALDYWGQSTLTVVSS	38178
vhCDR1	DYFMH	38179
vhCDR2	WIDPELGDTTEYAPKEQG	38180
vhCDR3	RGVYQALDY	38181
Dominio ligero variable (vl)	DIQMPOSRAFLSVTPGEKVITITCQASODIGNYINWFOOKPGQTVKLLIYFTSYLHSCEVPSRESSGGS GTDYTTETTISLEAEDMATTYECQGENTLFYTFGGGTKEIK	38182
vlCDR1	QASQDIGNYIN	38183
vlCDR2	FTSYLNHS	38184
vlCDR3	QOGNTILPYI	38185

Figura 11C
7G8_H3.18_L1.11 (Fab XENP21670)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRKSCAASGGTIEDAWMENVROAPGKLEWVAELISTKANNHATYYAESVK _GRTTISRDDSCKSVYLOMNSLRAEDTAVYCTRIATMDWYEDWNGQGTIVTVSS	38186
vhCDR1	DAMMD	38187
vhCDR2	EISTKANNHATYYAESVKG	38188
vhCDR3	LATWDWYFDV	38189
Dominio ligero variable (vl)	DTVLVTQSPSSLASASVGDRVITTCRASOSVVDYDGDSYMNWYQRECKPPKLIIYAASELESGIARLS GSGSGTIDFTLEISSLQEDFATYYCQOSNEDPFTFGSGTKIEIK	38190
VICDR1	RASQSVVDYDGDSYMN	38191
VICDR2	BASELES	38192
VICDR3	QQSNEDEPFT	38193

Figura 11D
2A11_HOLO (Fab XENP20930)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.
Dominio pesado variable (vh)	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCAAASGGTIESDAWMENVROSPERKLEWVAELIRKANNHATYYAESVK _GRTTISRDDSCKSVYLOMNSLRAEDTIGIYCTRIANWDWYEDWNGAGTIVTVSS	38194
vhCDR1	DAMMD	38195
vhCDR2	ELRKANNHATYYAESVKG	38196
vhCDR3	LANKWDWYFDV	38197
Dominio ligero variable (vl)	DTVLVTQSPASLAVSLGQRATISCKASOSVVDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLIIYAAASNLESGIARLS GSGSGTIDFTLNIPVEEEDATYYCQOSNEDPFTFGSGTKIEVK	38198
VICDR1	XASQSVVDYDGDSYMN	38199
VICDR2	AASNLIES	38200
VICDR3	QQSNEDEPFT	38201

Figura 11E
2A11_H1.125_L2.113 (Fab XENP21921)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVQSGAEVKKP GATV KISCKASGFN I KHYMH W QQARPGKGLEMM W IPYLGDT E YAPK F QGR VITIADSTNTAYMELSSLRS E TAVYYCYARGVYQALDYWGQGTIVT V SS	38202
vhCDR1	HYEMH	38203
vhCDR2	WIDPYLGDT E YAPK F QG	38204
vhCDR3	BGVYQALDY	38205
Dominio ligero variable (vl)	D1QMTQS P AFLS V TPGEKV T TCQASQDIGNY I NNFQQK P QTVKLLIYETSYL H SGVPSR F S G S G S GTDYTFTISSL E DAATYECQGNTL P TYTEGG G T K VEIK	38206
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38207
vlCDR2	FTSYLHS	38208
vlCDR3	QGNTL P YT	38209

Figura 11F
2A11_H112 (Fab XENP20847)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVQLVQSGAEVKKP GATV KISCKASGFN I KRDY M WQQARPGKGLEMM W IPEN G DTEYAPK F QGR VITIADSTNTAYMELSSLRS E TAVYYCYARGVYQALDYWGQGTIVT V SS	38210
vhCDR1	DYMEH	38211
vhCDR2	WIDPENGDT E YAPK F QG	38212
vhCDR3	BGVYQALDY	38213
Dominio ligero variable (vl)	D1QMTQS P AFLS V TPGEKV T TCQASQDIGNY I NNFQQK P QTVKLLIYETSYL H SGVPSR F S G S G S GTDYTFTISSL E DAATYECQGNTL P TYTEGG G T K VEIK	38214
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38215
vlCDR2	FTSYLHS	38216
vlCDR3	QGNTLEYT	38217

Figura 11G
2A11_H1_L2.25 (Fab XENP21372)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOIWSGAEVKKPGATVKISCKASGGNIRKDYMMWQAPGKGLEWNGWIDPENGDTETYAPKEQGR VTTTADTSNTAYMELSSLRSDETAIVYYCYARGVRQALDYNGQGTILVTVSS	38218
vhCDR1	DYNNH	38219
vhCDR2	WIDPENGDTETYAPKEQG	38220
vhCDR3	RGVRQALDY	38221
Dominio ligero variable (vl)	DIQMTCSPAFLSVPGEKTTITCQASODIGNYINWFOOKPDQTWKLLIYTTSRIHSGVPSRFGSGS GTDYTFPTISSLEADAATYFCQGNTILPYTFGGGTKEIK	38222
VICDR1	QASQDIGNHLN	38223
VICDR2	YTSHIHS	38224
VICDR3	QQGNTILPYT	38225

Figura 11H
2A11_H1_L2.47 (Fab XENP21394)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOIWSGAEVKKPGATVKISCKASGGNIRKDYMMWQAPGKGLEWNGWIDPENGDTETYAPKEQGR VTTTADTSNTAYMELSSLRSDETAIVYYCYARGVRQALDYNGQGTILVTVSS	38226
vhCDR1	DYNNH	38227
vhCDR2	WIDPENGDTETYAPKEQG	38228
vhCDR3	RGVRQALDY	38229
Dominio ligero variable (vl)	DIQMTCSPAFLSVPGEKTTITCQASODIGNYINWFOOKPDQTWKLLIYTTSIHSGVPSRFGSGS GTDYTFPTISSLEADAATYFCQGNTILPYTFGGGTKEIK	38230
VICDR1	QASQDIGNYLN	38231
VICDR2	YTSHIHS	38232
VICDR3	QQGNTILPYT	38233

Figura 11I
2A11_H1_L2_50 (Fab XENP21401)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVQIVQSGAEVKKPGATVVKISCKASGENIKDXYMHWVQQA P GKLEWMGWIDFENGDTYEAPKFGQR VTITADTSNTAYMELSSRLSDETA V YYCYARGV R QALDYWGQGTIVTVSS	38234
vhCDR1	DYYMH	
vhCDR2	WILDENGDTYEAPKFOG	38235
vhCDR3	RGVRQALDY	38236
Dominio ligero variable (vl)	DIQMTOSPAFLSVTPGEKVTTITCQASDIGNYINNWQQKPQTVKL I YYTSYHSGVPSRESGS GTDYTFTISSLEADAATYFCQQGNTLPYTFGGT K VEIK	38238
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38239
vlCDR2	YTSRLHS	38240
vlCDR3	QQGNFLPYT	38241

Figura 11J
2A11_H1L2 (Fab XENP20847)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º
Dominio pesado variable (vh)	EVQIVQSGAEVKKPGATVVKISCKASGENIKDXYMHWVQQA P GKLEWMGWIDFENGDTYEAPKFGQR VTITADTSNTAYMELSSRLSDETA V YYCYARGV R QALDYWGQGTIVTVSS	38242
vhCDR1	DYYMH	
vhCDR2	WILDENGDTYEAPKFOG	38243
vhCDR3	RGVRQALDY	38244
Dominio ligero variable (vl)	DIQMTOSPAFLSVTPGEKVTTITCQASDIGNYINNWQQKPQTVKL I YYTSR L HSGVPSRESGS GTDYTFTISSLEADAATYFCQQGNTLPYTFGGT K VEIK	38246
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38247
vlCDR2	YTSRLHS	38248
vlCDR3	QQGNFLPYT	38249

Figura 11K
7G8_H3.23_L1.11 (fab XENP21670)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVQIVVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGFTDDAMDWVRQAGKGLEWAEIISTKANNHATYYAESVK <u>GRTISRDSSKVSYLQMNSLRAEDTAVYCYCRLATNDWYEDWQGQTIVVSS</u>	38250
vhCDR1	DAWMD	38251
vhCDR2	EISTKANNHATYYAESVKG	38252
vhCDR3	LATNDWYEDV	38253
Dominio ligero variable (vl)	DTVLVTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSYDGDGSYNNWYQQKEGKPPLIYAASELESGIFARLS <u>GSGSGTDETLTISLQPEDEAYYCOQSNEDEPTFGSGTKEIK</u>	38254
vlCDR1	RASOSVVDYDGSYNN	38255
vlCDR2	AASELES	38256
vlCDR3	QOSNEDFET	38257

Figura 11L
7G8_H3.28_L1 (fab XENP21892)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESSGGGLVQPGGSLRLSCAASGGFTDDAMDWVRQAGKGLEWAEIISTKAYNHATYYAESVK <u>GRTISRDSSKVSYLQMNSLRAEDTAVYCYCRLATNDWYEDWQGQTIVVSS</u>	38258
vhCDR1	DAWMD	38259
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38260
vhCDR3	LATNDWYEDV	38261
Dominio ligero variable (vl)	DTVLVTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSYDGDGSYNNWYQQKEGKPPLIYAAASNLESGIFARLS <u>GSGSGTDETLTISLQPEDEAYYCOQSNEDEPTFGSGTKEIK</u>	38262
vlCDR1	RASOSVVDYDGSYNN	38263
vlCDR2	AASNLES	38264
vlCDR3	QOSNEDFET	38265

Figura 11M
7G8_H3.28_L1.11 (Fab XENP21893)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMMDWVRQAPGKGLEWVAEISTKAYNHATYYAESVK GRFTISRDSSKVYQMNLSRAEDTAVIYCTRLATWDWYFDWYGQGTIVSS	38266
vhCDR1	DAMMD	38267
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38268
vhCDR3	LATWDWYFDV	38269
Dominio ligero variable (vl)	DTVLTVQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVYDGDSYMNYQQKPGKPPKLIYAASELESGIPARL GSGGSTDETLTISLQPEDFATYYCQOSNEDPFTFGSGTKIEIK	38270
vlCDR1	RASOSVVDYDGDSYMN	38271
vlCDR2	AAASELES	38272
vlCDR3	QOSNEDPFT	38273

Figura 11N
7G8_H3.28_L1.13 (Fab XENP21894)

Qué	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMMDWVRQAPGKGLEWVAEISTKAYNHATYYAESVK GRFTISRDSSKVYQMNLSRAEDTAVIYCTRLATWDWYFDWYGQGTIVSS	38274
vhCDR1	DAMMD	38275
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38276
vhCDR3	LATWDWYFDV	38277
Dominio ligero variable (vl)	DTVLTVQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVYDGDSYMNYQQKPGKPPKLIYAASELESGIPARL GSGGSTDETLTISLQPEDFATYYCQOSNEDPFTFGSGTKIEIK	38278
vlCDR1	RASOSVVDHGDSYM	38279
vlCDR2	AAASELES	38280
vlCDR3	QOSNEDPFT	38281

Figura 12A (cadenas pesadas y ligeras variables anti BTLA4 + CDR)

Qué: anti-BTLA XENP20269 9C6 H0L0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLKESGPGLVAPSQSLSTCTVSGFSLTGYGVNVVRQPPGKGLEWLMWIDGSTDYNALKSRSLSIN KDNSKSQFLKMSNLQTDDARYCARDRPEGRANDYWGQGTISVTYSS	38282
vhCDR1	GYGVN	38283
vhCDR2	MIWIDGSTDYNALKS	38284
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38285
Dominio ligero variable (vl)	SIVMTQTPKELIVSAGDRYTITCKASQSVNSNDVAWYQQKPGQSPKLIVYYASNRYTGVPRFTGSGYGTID ETFTLSTVQAEDIAVYFCQCDYSSPTFGGGTKEIK	38286
vlCDR1	KASQSVNSNDVA	38287
vlCDR2	YASNRYT	38288
vlCDR3	QQDYSSSPT	38289

Figura 12B

Qué: anti-BTLA XENP20872 9C6 H1.1L1	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLKESGAEVKPKGASVYTKVKVSGTSLTGYGVNVVRQAPGQGLEWLMWIDGSTDYNALKFQGRVTMT KDNSKSSTVYMELSSRLSDTAVYCARDRPEGRANDYWGQGTIMVTYSS	38290
vhCDR1	GYGVN	38291
vhCDR2	MIWIDGSTDYNKFGQ	38292
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38293
Dominio ligero variable (vl)	SIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVNSNDVAWYQQKPGQSPKLIVYYASNRYTGVPRFTGSGYGTID ETFTLSSIQAEDIAVYFCQODYSSPTFGGGTKEIK	38294
vlCDR1	KASQSVNSNDVA	38295
vlCDR2	YASNRYT	38296
vlCDR3	QQDYSSSPT	38297

Figura 12C (cadenas pesadas y ligeras variables anti BTLA4 + CDR)

Qué: antiBTLA XENP020882	Secuencia	Id. de sec. n.º:
9C6 H1.11L1	QVQLVQSGAEVKKGASVVKVSCKVSGFSLTGIGVNWVRQAPGCGLEWMGMWIDGSTDYN SKFQGEILSIN	38298
Dominio pesado variable (vh)	KDNISKSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDRPDRGRAMDYWGQGTIVSS	
vhCDR1	GYGVN	38299
vhCDR2	MIWIDGSTDYN SKFQG	38300
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38301
Dominio ligero variable (vl)	SIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVNSNDVAYQQKPGQSPRLTY YASNRYTGVFDRETGSGYGTID	38302
vlCDR1	FITLISSLQAEDVAVYFCQGDYSSPTTEGGTLEIK	38303
vlCDR2	KASQSVNSNDVA YASNRYT	38304
vlCDR3	QQDYS SSPT	38305

Figura 13A (cadenas pesadas y ligeras variables anti-TIM3 + CDR)

Qué: anti-TIM3. XENP2 503.1D10_H0L0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVPRGGLIKFSCAASGEAFSSFDMSWVRQIPEERLEWVAYISSDGASTFYEDTMKGRTI SRDNAAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYCYTRLGAYWGQGTIVTVA	38306
vhCDR1	SEDM	38307
vhCDR2	YISSDGASTFYPDTMKG	38308
vhCDR3	LGAY	38309
Dominio ligero variable (vl)	DVVTQQTPLTSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYINWILQRPQQSPKRLLIYEVSKLDGSVPDRFTGS GSGTDFTLKSIRVEAADLGVYVCGQGHFPYTEGGTAKLEIK	38310
vlCDR1	KSSQSLLDSDGKTYIN	38311
vlCDR2	VSKLDS	38312
vlCDR3	WQGTHFEPYT	38313

Figura 13B

Qué: anti-TIM3. XENP2 492.1D12_H0L0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVOLVESGGGLVPRGGLIKFSCAASGEAFSSFDMSWVRQIPEERLEWVAYISSDGASTFYEDTMKGRTI SRDNAAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYCYTRLGAYWGQGTIVTVA	38314
vhCDR1	SEDM	38315
vhCDR2	YISSDGASTFYPDTMKG	38316
vhCDR3	LGAY	38317
Dominio ligero variable (vl)	DIVLTQSPASLAVSLGQRTATSCRASEVEYYGTYLQWYQQKPGPFPKLIIYASNVESGVPARSGSG SGTDESLNINHPVEEDDIANYCQQQRKVWPWTGGGTAKLEIK	38318
vlCDR1	RASESVEYYGTLQ	38319
vlCDR2	MASNVES	38320
vlCDR3	QQSRKVPT	38321

Figura 13C (cadenas pescadas y ligeras variables anti-TIM3 + CDR)

Que:	Secuencia	Id. de sec. n.º:
XENP21189_H3_H1L2.1		
Dominio pesado variable (vh)	QVTLKESGPVLVKPTETLTLLCTVSGESELSNGYGVNWROPPGKGLEWLMAMIWGDGETDYN SALKSRLTIS KDNSSKSQVVLTMNMDPVDTATYCARSYTSDEDYWGQGTIVVSS	38322
vhCDR1	GYGVN	38323
vhCDR2	MWGDGSTDYN SALKS	38324
vhCDR3	SYTTSDEDY	38325
Dominio ligero variable (vl)	DIVMTOSPDSSLAVSLGERATINCKSSOSLINSRTRKNYLAWYQCKPGQSFKLIIWASTRESGV>DRETG SGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCKQSYSLRTEFGGTGKVEIK	38326
vlCDR1	KSSQSLNSRTRKNYL A	38327
vlCDR2	WASTRES	38328
vlCDR3	KQSYSLRT	38329

Figura 13D

Que:	Secuencia	Id. de sec. n.º:
XENP21493.6C8_H0L0		
Dominio pesado variable (vh)	QVQLKESGPGLVAPSQSLSIITCTVSGFSLNGYGVNWROPPGKGLEWLMAMIWGDGSTD YNSALKSRLSIS KDNSSKSQVELKMNLSQTDDTARYCARSYTSDEDYWGQGTIVVSA	38330
vhCDR1	GYGVN	38331
vhCDR2	MWGDGSTDYN SALKS	38332
vhCDR3	SYTTSDEDY	38333
Dominio ligero variable (vl)	DIVMTQSQKEMSTSVGDRYSVTCKASCNVGSNVACQQKPQSPKALIYSSASF RYSGV>DRETGSGSGTD FTILTISNVOSEDLAEYFCQQYNNSPYTFGGTKEIK KASQN VGSNVA	38334
vlCDR1		38335
vlCDR2	SASF RYS	38336
vlCDR3	QQYNNSPYT	38337

Figura 13E (cadenas pesadas y ligeras variables anti-TIM3 + CDR)

Qué: anti-TIM3. XENP21494.6D9H0_1D12_0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVCLKQSGPGLVQPSQSLISITCTVSSEFSLTSYCVHMVRQSPGKGLEWLGVINSGGSTTEYNBAFISRLSIS	383338
vhCDR1	SYGVH	383339
vhCDR2	VIWGGSTEYNAAFIS	383340
vhCDR3	CGLLSPFDY	383341
Dominio ligero variable (vl)	DIVLTQSPASLAVSILQORATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPCQPPKLIIYAAASNVESCVPARSGSG	383342
vlCDR1	SGTDESLNIIHPVEEDDIAMYFCQOOSRKVFWTFGGTAKLEIK	383343
vlCDR2	RASESVEYYGTSMQ	383344
vlCDR3	AASNEVES	383345
	QOSRKVPMI	

Figura 13F

Qué: anti-TIM3. XENP21495.7A9_H0L0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVKLIESSGGLVQZGGSLKLSCAASGFDESRYWMSWVRQAPGKGLEWIGRNIPDSLKFKFLI	383346
vhCDR1	SRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYXCARPNQYYVGTIEPEAYWCGQGILVTVSA	383347
vhCDR2	RYWS	383348
vhCDR3	EINPDSSTINYTPSLKD	383349
Dominio ligero variable (vl)	PNGYYVGTIEPEAY	383350
vlCDR1	QAVVTOQESALTTSPGETVTILTCSRSTGAVTTSNYANWQEKPDHLFTGTLIGGGTNRAPGVPARSGSLIG	383351
vlCDR2	DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHAWFEGGGFKLTVG	383352
vlCDR3	RSSTGAVTISNYAN	383353
	GTNNRAP	
	ALWYSNHWV	

Figura 13G (cadenas pesadas y ligeras variables anti-TIM3 + CDR)

Qué: anti-TIM3. XENP21496.B11_var_HOLO	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSIITCTVSGFSLTSYAVNWROSPGKGLEMLGVIWGGSTTDYNAAFISRLSIS	38354
vhCDR1	KDNKSQVEFKMNSQANDIAIYCVSLLYYRDGEDYWGQTLTVSA	
vhCDR2	SYAVN	38355
vhCDR3	VIWGGSTDYNAFIS	38356
Dominio ligero variable (vl)	DIVLTOSQKELSTSVGDRVSVTICKASQNYGTHVARYQQKPQOSPKALVYSASYRYSGVPDRFTGSGSTID	38358
vlCDR1	LYRYDGFY	38357
vlCDR2	DIVLTOSQKELSTSVGDRVSVTICKASQNYGTHVARYQQKPQOSPKALVYSASYRYSGVPDRFTGSGSTID	38358
vlCDR3	FTLTISNVQSEDLAELYFCQOYNNSYPLTFFGGTKEIK	
vlCDR1	KASQNVGTHVA	38359
vlCDR2	SASYRYS	38360
vlCDR3	QQYNNSYPLT	38361

Figura 13H

Qué: anti-TIM3. XENP21501.B11_var_HOLO	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSIITCTVSGFSLTSYAVNWROSPGKGLEMLGVIWGGSTTDYNAAFISRLSIS	38362
vhCDR1	KDNKSQVEFKMNSQADDIAIYCVSLLYYRDGEDYWGQTLTVSA	
vhCDR2	SYAVN	38363
vhCDR3	VIWGGSTDYNAFIS	38364
Dominio ligero variable (vl)	DIVLTOSQKELSTSVGDRVSVTICKASQNYGTHVARYQQKPQOSPKALVYSASYRYSGVPDRFTGSGSTID	38366
vlCDR1	LYRYDGFY	38365
vlCDR2	DIVLTOSQKELSTSVGDRVSVTICKASQNYGTHVARYQQKPQOSPKALVYSASYRYSGVPDRFTGSGSTID	38366
vlCDR3	FTLTISNVQSEDLAELYFCQOYNNSYPLTFFGGTKEIK	
vlCDR1	KASQNVGTHVA	38367
vlCDR2	SASYRYS	38368
vlCDR3	QQYNNSYPLT	38369

Figura 13| (cadenas pesadas y ligeras variables anti-TIM3 + CDR)

Qué: anti-TIM3, XENP21502_7C2_H0L0	Secuencia	Id. de sec. n.º:
Dominio pesado variable (vh)	EVKVESGGGLVKEGGSLIKLSCAASGFTTSRYAMSIVRQTPERKLEWVAS <u>KSSGGSTYYPDSVQGRFTIS</u> EDNARNILLYIQLMSSLRSEDTAMYCARGDYEYFYDYGQQGTSLTVSS	383370
vhCDR1	RYAMS	383371
vhCDR2	SISGGSTYYPDPSVQG	383372
vhCDR3	GDYEYFYD	383373
Dominio ligero variable (vl)	DIVMTQSPSSLAMSIVGOKRTMSCKSSQELLNSINQKNYIAYQKPGQSPRLVYFASTRESGVPDFIG SGSGEDFTLISIVSQADEMLADYFCOOHYSTPLTFGACTKLMK	383374
vlCDR1	KSSQLLNSINQKNYLA	383375
vlCDR2	FASTRES	383376
vlCDR3	QQHYSTPLF	383377

Figura 14A (CTLA-4 X PD-1)

XENP19738

Cadena pesada de Fab-TC XENP019738 iplimumab H310-1G6 L1.210 H1.288 (Id. de sec. n.º 38378-38382)
 EQVQLVEGGGLVKKGSSLRLSCLASGFPTSSYTMWVRQAPDGKGLLEWSFISIDGNKNKKYADSVKGRFTIIRDNAKNSLILQNSLRAEDTAVYCCARTGWLGPFDYWGGQTIVTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGCTTAIGCILVKDYEPEPYTWSWNSGALTSGVHTEPAYLQSSGLYSLSSVVTTPSSSLGTQTYICVNWNHKPDSIKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVTFLEPPKPKDTIMISRTP
 EWTVCVVVDVKHEDPYLKWMWYDGVETNAKTPREEETNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAFIEKTISRAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLLTCDYSGFYPSDIAVEWESDGQ
 PEENYYKTTPPVLDSDGSEFTLYSKLTVDERSWEQGDVFSCSYMWHEALHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena pesada de scfv-Fc XENP019738 ipilimumab_H3L0-1G6_L1_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 3-38392, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVLTQSPATLSASGERVILTCRASQSYGNDVAIQQKPGQAPRLLINAYSHRTYTGYPDRFTGSGYGTETPLTISVQSEDEGYYCCQDFSSPRTEFGCTKVEIK/GKPSSGKGPKGSQGPKGS/EVQLVESGGGLVKGGSIRLSCVASGFTESNYWMNWVQAPGKCLEWAEIRLYSNYYATHAESVKGRITLSDDSKSITLQMNLNKTEDIGYCTTRYGNYGYFDYWGRGILTVSS/EPKSSDKHTCPCPAPPAGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKMNVYDGVEVNAAKTKREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEWYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREFQVYL PPSREQMTKQVQLKTCLVKGFYPSDIAEWSNGPENNYYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRRWQGNNFSCSVIMHEALNHYTOKSLSLSPK

Cadena ligera XENP019738 ipilluminab_H3L0-1G6 L1_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 38393-38397)
 EELVLTQSPGTLSLSSGERATLSCRASQSYGSSYLLAWYQQKPGQAPRLIYGAFSSRATGIPDRFSGSSGSTDFTLTISRLPEDEAVYCCQYGSSPWTFQGGTKVEIK/RTVAAAPSVFIEPPSDEQLKS
 GTASVVCLNNFTYPREAKVQKVDNALCGNSQESVTEQDKSDTYSLSSTLTISKADYEKHKRVYACRYTHQGLSSPVTKSFRGEC

Figura 14B

ENP19739

Cadena pesada de Fab-FC XEN019739 polímero H3L0-1C6 HI.2/79 L1.194 (Id. de sec. n.º 38398-38402) EQLVSEGGGLVKPGCSLRSLCAAAGTSSYTMHWVROEKGLEWVSFLISDNKANSLYLLNNSLRAEDTAVYCARTGWLGPFDYWGCGTIVVSS/ASTKGPSVFP EQLVSEGGGLVKPGCSLRSLCAAAGTSSYTMHWVROEKGLEWVSFLISDNKANSLYLLNNSLRAEDTAVYCARTGWLGPFDYWGCGTIVVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYEPEPVTSWNSGALTSGVHTEPAVLOSSGLYSSSSTVTPSSSLGTYICVNHKPSDIKVDRKEPKSCDTHTCPCPAFPVAGPSVFLPEPKDLMISRTP EITVICVVVDVKEDEPVKFWYVGVEYNHAKTKPREEEINSTYRVSVLTVLHQDWMLNGKEYCKVSNKAPAPIEKTIKSKRGQPREFQVYTLFSSREEMTRKNQVSLTCDSGFYPSDIAVENESDQG PRNNYKTTPPVLDSDGSEFLYSLKTVDESRWEQGDVFTCSVNAHELNHNHYTOKSLSTISPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP0191739 1piluminaab H310-1G6 H1-279 L1-194 (Id. de sec. n.º 38403-38412, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVQLVSEGGLVKPGGSLRLSCVAGTFSNYMNWVRQDPKGLEWAIRLYNNATHYAESVKRFTLSRDDSSTLYLQMNNLKTEDIGYYCTRYGNYGGYFDWGRGLTVVSS/GKPGSCKPGSKPGS EIVLTQSPATLSPSGERVTLTCASQSVGNDVAQKPCQAFLINASYRHTGVPDFRTGSGVGEFTLTISSVQSEDEGVYCCQDESSPPFEGGCKVEIK/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVLFEPKPKDILMSRTPETVYVVDVKHEDPEVKNTWYVGVEVNATKYPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGREYCKVSNKALPAPTEKTSKAKGQPREFQVYTLLPDSREQMTKNQVRLTCLVKGYPSDIAWEWSQOPENNYKTTPPVLDGSDFFFLYSKLTVDKSRWQQGNNFSCSYMHEALINHYTKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP019739 ipilimumab H310-1G6 H1-279 L1-194 (Id. de sec. n.º 38413-38417)
EIVLTQSPGTILSISPGERATLSCRASQVGSSYLAWWYQOKPGQAPRLITYGAFSTRATGIPDRFSGSGSGDETTLTISRLEPEDFAVYYCQQXGSSPWT
FQGQTKEIKR/RTVAAPSVEFPPSDEQLKS
 GTASVVCLNNFYREAKVQWKVDNALCGSNQESVTEODSKDSTSLSSTLTSKADYEKHVKVACEYTHQGLSSPVTKSRGEC

Figura 14C (CTLA-4 X PD-1)

XENP19741

Cadena pesada de Fab-Fc XENP019/41 ipilimumab_H310-1G6 L1.194 H1. 279 (Id. de sec. n.º 38418-38422)
 FEVQIVLESGGIYKPGGSLR, SCAASGFTFSSYMEHWKRQAPGKGLEWWSFISXGNNKYYADSVKGRETTSRDNAKNSLILQOMNSLRAEDTAVYCCARTGWLGPFDYWGQGLTVYSS/ASTKGPSVFP
 FVQVLLAPSSKSISGGTAALGCLVKDYFPRPVYWSNNGALTSGVHTEPAVLOSSGLYLSLSSVVTVPSSSLGTQTYICVNWHKPDSITKVYDKVKEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLPPPKPKDMLMISRTP
 EYVTCVVVDKHDPEVKENFYDGYEYHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTLHQDWLNGKEYCKVSNKAQPPIEKTIASKGQPRZPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSLTCDVGTFPSDIAVEWESDGQ
 PENNYKTTIPVLDSDGSFEELYSKLTVDKSRWEQGYVTSCSVMEALTHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena ligerá XENP019741 ipilimumab_H3L0-16G_L1_1.94_H1_279 (Id. de sec. n.º 38433-38437) EIVILVLTQSKTLSIISGERATLSCRASQSYGSSSTIAWYQKPGQAPRLLIYGANRSRATGIPDRFSGSGCTDFLTISRLEPEDAVYYCQQYGSSPVTFEGGTKVEIK/RTVAAPSVEITFPPSDBQLKSKSSGTASVVCLNNFYPREAKVWKVDNALQSGNSQESVETQDSKDTSTLTSLTTSKADYEKHKVYACHVTHQGLSS.PVTRGEC

Figura 14D

XENPP20053

Caéden pesada de Fab-Fc XENP020053 ipilimumab H3L0_22-1G6_L1_194_H1_279 (ID. de sec. n.º 38438-38442)

Cadena basada de scFv-Fc XENP020053 ipilimumab_H3L0.22-1G5_L1.194_H1.279 (Id. de sec. n.º 38443-38452, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 38443-38452,

PEIVLITQSPATLASSPGERVTHACQKPGQAERLLINYASHRHTGVPDRFTGSGTGEFFLTITISSVOSEDGTGVYCCQDDESSPRLEGGGTKEIK/GKPGSGKPGSGKPGS/PEIVOLVESCGGLVKPGSLRLSCVSAQFTESNYMNWROAPGKGLEIWAERLYSNNYATHYAESVIGRFTISRDDSKSTSYLQMNNLKTDEDTGYYCTTRYGNYGGYFEDWGRGLTVVSS/EPKSSDPEIVYKHTCCEPAPPAVAGPSVFLIPPERPKDTLMISRPEPTWTCVYDVKHDPEPYENMWYDGVVEVNAAUTKPREEQNSTYRVSVLTVLHQDMINGREYKCRVSNKALPAPIEKTLISKAKGQPREPOVYTLPFSREQUTKNOVKLTCLYRGEGEYRSIDIAVEWESNGOFPENNNTKTTIEPVLDSDGSEFELYSKLTVDKSRRQOGNVECSVMHEAHINHYOTKSI-ST-SPGK

Cadena ligera XENP020053 ipilimumab_H3L0_22-1G6_L1.194_H1.279 (Id. de sec. n.º 38453-38457)
EEVLTQSEGTLISSLSPGERATLSCRASQVSSSSLWYQQKPGQAPRLLIYAFSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLIEPEDEAVYYCQQYGSSPTEFGQTKVKEIK/RTVAAPSPVFTIFPPSDEQLKS
GITASVCLNNEPREAKYQVKDNAOSGNSEOESEYDOSKDTSTYSSSTTISKADYEKHKYACEVTHOGTSSPVTKSBRGEC

Figura 14E (CTLA-4 X PD-1)

XENP20066

Cadena pesada de Fab-Fc XENP020066 1911monab H3 L0.22-1G6 H1.279 L1.194 (Id. de sec. n.º 38458-38462) FEQVQIVESGGCLVKPGGSRLSCAASGFTTSSITMEWROAPGKGKLEWSEISYDGNNKTYADSVKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTWMIGFEDYNGQGTILTVYSS / ASTKGPSVFP FVQVIVDVKHEDPEVKFNYIVDGVEVHAKTEKEPEEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKRYKCKVSNKALAPIEKTISKAKGQPQEPOVYTLPSEEMTKNQSLTCVDSGFVPSDIAVEWESDGQ

Cadena pesada de scfv-Fc XENP020066 ipilimumab_H3_L0.22-1G5_H1.279_L1.194 (Id. de sec. n.º 38463-38472, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708)

Cadena ligera XENPU20066 ipilimumab H3_1L0_22-1G6_H1_279_L1_194 (Id. de sec. n.º 38473-38477)
EIVITQSPGTLSLSPGEATLSCRASQSYYSSSTLAWYQQKPGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDELTISLEPEDFAVYCCQYGSSPMTFGOGTKEIK/RTVAAAPSVFIEPPSDEQLKS
Cadena ligera XENPU20066 ipilimumab H3_1L0_22-1G6_H1_279_L1_194 (Id. de sec. n.º 38473-38477)
GTASVCLINNFYPREAKYQWKVNDNAQSGNSDESVTEODSKDSTYSLSSSTLTLASKADVEKHRYVACEVTHQGLSSPVTKSENHRGC

Figura 14F

XENP20130

Cadena pesada de Fab-Fc XENPO20130 ipilimumab_H3_10_22-1C6_11_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 38478-38482)
 FEVQLVESGGGLVKPGGSIRLSCAASGTFESSITMHWRQAPGKLEWVSFELSYDGNNKKYADSVKGRTFTIRDNAKNSLYQMNLSRAEDTAVYICARTGWLGPEFDYWGQGTIVYSS/ASTKGPSVFPP
 LAPSSKSSTGGTAALGCKYDFPEPTVTSNNGALTSGVHTFAYLQSSGLYSLSSSVYTVPSSSSLGTYOTICVNUNHKPESDITKVKKEPKSCDKTHCPCAPPVAGPSVTEFPBKPKDTIMISRP
 ETVCTVVDKHEDEPVKTMWYVDGVEHNMAKTKPREEEYNSTYVVSVLTVHQDWLNGKEYKCVSNKALPAFIETLKSKARGOQEPEQVYTLPSREEMTQNOSLTCDYSGTPSDIAVENEWSDDG

Cadena pesada de scFv-Fc XENP020130 ipilluminab_H3_L0_22-1GG_L1_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 38483-38492, enlaceador descrito como Id. de sec. n.º : 37708) [Clique para ver la secuencia](#)
Cadena pesada de scFv-Fc XENP020130 ipilluminab_H3_L0_22-1GG_L1_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 38483-38492, enlaceador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)
[Clique para ver la secuencia](#)

Cadena ligera XENP020130 iplimumab H3 I0_22-1G6_II_210_H1_288 (Id. de sec. n.º 38493-3897)
EIVLJQSPTLISPGERATLSCRASQSTVSSSYIAYWQKRGQAPRLLYGAESRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLLEPEFDAYVYCOQYGSSTWFGQTKVEIK/RTVZAPSVFIFPPSDEQLKS
FIASVYCLINNNFPREAKVQNKVDNALOSENQSEVTEQPSKDSTYSLSSTTSKADYEKHKVYACTVHOGISSPVTKSFURGEC

Figura 14G (CTLA-4 X PD-1)**XENP20146**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP020146 ipilimumab H3 LO_22-1G6 H1_280 L1_224 Fab-Fc (Id. de sec. n.º 38498-38502) EVOLYESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMWQRQAPGKGLEWYFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYCCARTGWLGPFDTWQGTLYTVSS/ASTKGPSVYPP LAPSSKSSTSGGTAALGCLVKDPEPYTVSWNSGALTSGVHTFPAVLOSGEYIQLSSVVTVPSSSUQGTOYTICVNHNKPSPSKTVDKVEPKSDTHTCPCPAFPVGSVTFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYWDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSSVTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPOVYTLPPENNYKTTPEVLDSDGSEFLYSLKLTVDKSRWEQDFVSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK

Cadena pesada de scfv-Fc XENP020146 ipilimumab_H3 LO_22-1G6_H1_280_L1_224 (Id. de sec. n.º 38503-38512, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708)

EVOLYESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMWQRQAPGKGLEWYAEIRLYSNNYATHYZABSVKGRFTISRDSSKSSTLYLQMNLNKTEDGYCYCTRYGNYGGYFDWGRGTLTVSS/GKPGSG KFGSGKPGSKPGS/EIVLTQSPATLVSPPGERVITLTCRASQSVGNDYAWYQKQPKQAPRLL_NYASHRYTTSVPEDRATGSGYGTETFLTISSTYQSEDEAVYCCQDWSSEPRLEGGGTKEIK/EPKSSD KIHTCPCCEAPPVAGPSVTFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYWDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVSSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPOVYTLPPFSREOMTKNQVKLTCLVKGFPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPPVLDSDGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK

Cadena ligera XENP020146 ipilimumab H3 LO_22-1G6 H1_280 L1_224 (Id. de sec. n.º 38513-38517) EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYIWMQKPKGQAPRLLTYGAFSRATGIPDRSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYCCQYGSSEWTFGQGTKVIEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQIJKSGTASVYCLINNEYPREAKVQMKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDTYSLSSSTILTSKADYEKHVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE

Figura 14H**XENP20711**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP020711 ipilimumab_H3 LO_22-1G6 L1_194 H1_279 M428L/N434S (Id. de sec. n.º 23576-23580) EVOLYESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMWQRQAPGKGLEWYFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYCCARTGWLGPFDTWQGTLYTVSS/ASTKGPSVYPP LAPSSKSSTSGGTAALGCLVKDPEPYTVSWNSGALTSGVHTFPAVLOSGEYIQLSSVVTVPSSSUQGTOYTICVNHNKPSPSKTVDKVEPKSDTHTCPCPAFPVGSVTFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYWDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSSVTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPOVYTLPPENNYKTTPEVLDSDGSEFLYSLKLTVDKSRWEQDFVSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK

Cadena pesada de scfv-Fc XENP020711 ipilimumab_H3 LO_22-1G6_L1_194_H1_279_M428L/N434S (Id. de sec. n.º 23581-23590 enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708)

EIVLTQSPATLSSAPGERVITLTCRASQSVGNDYAWYQKPKGQAPRLLNYASHRYTGVPDFRTGSGYGTETFLTISSTYQSEDFGIVYCCQDFESSRTFGGGTKEIK/GKPGSGKPGSKPGKFCGS/EVOLYESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMWQRQAPGKGLEWYAEIRLYSNNYATHYZABSVKGRFTISRDSSKSSTLYLQMNLNKTEDGYCYCTRYGNYGGYFDWGRGTLTVSS/EPKSSD KIHTCPCCEAPPVAGPSVTFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYWDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVSSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPOVYTLPPFSREOMTKNQVKLTCLVKGFPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPPVLDSDGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK

Cadena ligera XENP020711 ipilimumab_H3 LO_22-1G6_L1_194_H1_279 M428L/N434S (Id. de sec. n.º 23591-23595) EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYIWMQKPKGQAPRLLTYGAFSRATGIPDRSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYCCQYGSSEWTFGQGTKVIEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQIJKSGTASVYCLINNEYPREAKVQMKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDTYSLSSSTILTSKADYEKHVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE

Figura 141 (CTLA-4 X PD-1)**XENP22836**

XENP022836_2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0_129_scFv HC-Fab (Id. de sec. n.º 38538-38542)
 QVOLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYAFTNYWLGMWROAPGQGLEMGNFPGSNTYVNEKE&GRVTMTADKSISI STAYMELSRRLSDDTAVYFCARHYGTNRYFDWAGATLVSS /ASTIKGPSV
 EPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPEPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQLOSSGLYSLSSSLGTTQYICNWHKPSDTKUDKKVEPKSDKTHTCPCPAPPAGPSVFLFPKPKDILMSR
 TPEVITCVVVDVKHEDEPEVKENWYDGEVHNAKTRPREEEYNSTYRVSVLTLHQDWLNGKEIKCXSINKALPALEKTIASKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNOVSILTCDVSGFYPSDIAVEWESD
 GOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022836_2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0_129_scFv HC-scFv (Id. de sec. n.º 38543-38552, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)
 EVQLVQSGAEVKPGGSTRLSCAASGFTFSSYTMWROAPKGLEWSTTSYDGNYKYYADSYKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYCARGGHLLGFDLWGQGTNTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLITQSPATLSSLSPGERATLSSCRASQSVGSSYIAWQOKPGQAPRLLIGASSRATGIPDRFSGSSGTDFLTLSLRLPEDEFAVYCOQGSSPWTFGQGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAEPVAGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVYDVKHEDPEVKENWYDGVHEVNAKTKPREEQNSTYRVSVLTLHQDWLNGKEYCKVSNKALLPAIEKTIASKGQPREFQVYTLPPS
 REQMTRKNQWKLTCLVKGFTYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP022836_2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0_129_scFv (Id. de sec. n.º 38553-38557)
 DIVLITQSPATLSSLSPGERATLSSCRASQSVSNDYAMQQKPGQSPRLLIYYASNRYTGVPDFTGSGYGTDFLTLSIPEDEFAVYFCQOBYSSPYTFGGGTKEIK/RTVBAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCINNFYPREAKVNDNALQSGNSSQESTEQDSKDSSTYSLSLTSKADYEKHKYACEVTQGLSSSPYTKSFNRGEC

Figura 15A (LAG-3 X PD-1)**XENP20206**

Cadena pesada de Fab-FC XENP020206 2A11_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38558-38562) EVQLYQSGAEVKKGATVYLCKSCKASCENIKDDMMWQOAPGKGLEWMQIDPENGDTTEYAPKHOGRVTITADISTNTAYMELSSRLSED~~TAVYYCYARGVROALDYGQGTLYT~~VSS / ASTKGPSVFP LAPSKRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNLQSGALTSCVHTFPAYLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTTQTYICNVNHRPSDTKVDRKVEPKSDRTHTCPFCAPPAGPSVFLFPKPDLMISRTPEVTCVYDVWKHEDEPEVKFNWYVDGVEVNARAKTKEPKEEYNSTYRVSVLVLHQDWLNGKEYRKCVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVTLPLPSREEMTNQVSILCDSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTTPVLDGSFFLYSKLTVDKSRLQGDYVTSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP020206 2A11_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38563-38572), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVLTQSPATLSASPGERYVLTICRASQSYGNNDYAWYQQKPGQAPRLLINYASHRHTGVPDFRTGGYGETFTLTISSVQSEDFGVYCOQDESSPRTFEGGTKEYEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG / EVQLYESSGGGLVKPGGSLRLSCVAGFTFSNYINWNRQAPGKLEWAIRLYSNNYATHAESA~~VSGRF~~ISRDDSKSTLYLQMN~~NLKTED~~IGVYIYCTRYGNYGYFDWGRGLTVSS / EPKSSDKTHTCPPCPAPPAGPSVTFLEPPKPKDTLMISRTPEVTCVYDVWKHEDEPEVKFNWYVDGVEVNAKTKEPREQYNTSYRVSVLVLHQDWLNGKEYRKCVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPFSEREQMTKNOVQLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGPENNYKTTPVLDGSFFLYSKLTVDKSRLQGDYVTSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP020206 2A11_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38573-38577) DIQMTOQSPAFLSVTPEGERTVITCOASQDIGNYLN~~EQKQPKDQFV~~YKLLIYTTSRLHSGVP~~SREFSGSGT~~DYFTTISLEAEDAATYFCQOQNTL~~PYTFGGT~~KVE~~IK~~RTVAAPS~~VFI~~FPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKV~~MKVDNA~~QSGNSOE~~SYT~~EQDSKDS~~Y~~SLSS~~TT~~LTSKADYEKHVIA~~EVTH~~QGLSSP~~VTR~~SFRGEC

Figura 15B**XENP21582**

Cadena pesada de Fab-FC XENP021582 2A11_H1_12_91_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38578-33582) EVQLYQSGAEVKKGATVYLCKSCKASCENIKDDMMWQOAPGKGLEWMQIDPENGDTTEYAPKHOGRVTITADISTNTAYMELSSRLSED~~TAVYYCYARGVROALDYGQGTLY~~VSS / ASTKGPSVFP LAPSKRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNLQSGALTSGVHTFPAYLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTTQTYICNVNHRPSDTKVDRKVEPKSDRTHTCPFCAPPAGPSVFLFPKPDLMISRTPEVTCVYDVWKHEDEPEVKFNWYVDGVEVNARAKTKEPKEEYNSTYRVSVLVLHQDWLNGKEYRKCVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVTLPLPSREEMTNQVSILCDSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTTPVLDGSFFLYSKLTVDKSRLQGDYVTSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP021582 2A11_H1_12_91_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38583-38592), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVLTQSPATLSASPGERYVLTICRASQSYGNNDYAWYQQKPGQAPRLLINYASHRHTGVPDFRTGGYGETFTLTISSVQSEDFGVYCOQDESSPRTFEGGTKEYEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG / EVQLYESSGGGLVKPGGSLRLSCVAGFTFSNYINWNRQAPGKLEWAIRLYSNNYATHAESA~~VSGRF~~ISRD~~DSR~~STLYLQMN~~NLKTED~~IGVYIYCTRYGNYGYFDWGRGLTVSS / EPKSSDKTHTCPPCPAPPAGPSVTFLEPPKPKDTLMISRTPEVTCVYDVWKHEDEPEVKFNWYVDGVEVNAKTKEPREQYNTSYRVSVLVLHQDWLNGKEYRKCVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPFSEREQMTKNOVQLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGPENNYKTTPVLDGSFFLYSKLTVDKSRLQGDYVTSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP021582 2A11_H1_12_91_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38593-38597) DIQMTOQSPAFLSVTPEGERTVITCQASQDIGNYLN~~EQKQPKDQFV~~YKLLIYTTSRLHSGVP~~SREFSGSGT~~DYFTTISLEAEDAATYFCQOQNTL~~PYTFGGT~~KVE~~IK~~RTVAAPS~~VFI~~FPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKV~~MKVDNA~~QSGNS~~ES~~WTQDSKDS~~Y~~SLSS~~TT~~LTSKADYEKHVIA~~EVTH~~QGLSSP~~VTR~~SFRGEC

Figura 15C (LAG-3 X PD-1)**XENP21584**

Cadena pesada de Fab-FC XENP021584 2A11_H1_L2_93_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38603-38662) ENQIVQSGAVVKPGATVKISCKASGENIKDYMHW~~T~~^WQAPGKGLEW~~M~~^GWIDENGDETEYAKFQGRVTTADTSTNTA~~N~~^LSLRSEDTAVIYCYARGVROALDYWGQGTIVTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTS~~G~~TAALGCLNKDYFPEPTVSWNSG~~A~~LTSGVHTFPAVLQSSGLY~~I~~LSVVTVT~~P~~SSSLG~~E~~TQYTCN~~V~~NHKPSDTKVDK~~R~~KVEPKSCDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTP ETVICVYVVDVXHEDEPEVKENWYDGV~~E~~WHNAKTKPREEYNSTYRV~~V~~S~~V~~L~~H~~QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI~~S~~AKGQPREPOVYTLPPSR~~E~~MTKNQSLTC~~D~~YGFYPSDIAVEWE~~S~~DGQ PENNYKTTTPVLDSDGSF~~E~~LYSKLTV~~D~~S~~R~~MEQGD~~V~~CSVM~~H~~ALHNHYTQ~~R~~SLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP021584 2A11_H1_L2_93_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38603-38662), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVL~~T~~QSPATLSASPGERVTITC~~A~~SGSV~~G~~NDVAW~~Y~~Q~~K~~PGQ~~A~~PRLL~~N~~YASHRYTGV~~P~~DRFTG~~S~~GY~~G~~TFETL~~T~~ISSVQ~~O~~SEDFGGT~~K~~VEIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLVESGGDN~~V~~KPGGS~~L~~RLSCVASGETFSNYM~~W~~NR~~O~~APGK~~G~~LE~~W~~VAE~~I~~RLYSNNYATHYAE~~S~~YGR~~E~~TISRDDSK~~K~~STLYLOM~~N~~NLKTEDTG~~Y~~YCTRYG~~N~~GGYFD~~W~~GR~~G~~T~~L~~TV~~V~~S/EPKSSD KTHTCPPCPAPPVAGPSVFL~~E~~PPKPK~~T~~ILMISRT~~P~~ETIC~~C~~VV~~V~~DVKHEDEPEVKENWYDGV~~E~~WHNAKTKPREEYCN~~N~~STYRV~~V~~SLTV~~L~~HODWLNG~~K~~Y~~T~~CKVSNKALPAPIEKTI~~S~~AKGQPREPOVYTL~~T~~ PFSREQM~~T~~KNQVKL~~T~~CLV~~G~~FYPSDIAVEWE~~S~~NGQ~~P~~NNYKTT~~P~~VLDSDGS~~F~~FLY~~S~~KLTV~~D~~SRM~~Q~~GNVFSC~~S~~VM~~H~~ALHNHYTQ~~R~~SLSPGK

Cadena ligera XENP021584 2A11_H1_L2_93_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38613-38617) D~~I~~QMTOSPATLS~~V~~TPGEKV~~T~~TC~~Q~~ASDIGNYL~~N~~WFQ~~K~~PDOTPKL~~L~~YYT~~S~~ERHSGVPSRFSGSG~~G~~TY~~T~~FT~~T~~ISSLEAD~~A~~ATYFCQ~~Q~~Q~~G~~NTLPY~~T~~EGG~~G~~T~~K~~VEIK/RTYAAPS~~V~~FI~~F~~PPSDEQLKSG TASVVC~~L~~NNFY~~P~~REAKVQ~~W~~KV~~D~~NA~~L~~Q~~S~~NSQ~~E~~SY~~T~~EDDSKD~~T~~SY~~S~~ST~~T~~SKAD~~Y~~E~~K~~H~~V~~Y~~A~~CH~~T~~Q~~G~~ISSP~~V~~TK~~S~~FR~~G~~C PENNYKTTTPVLDSDGSF~~E~~LYSKLTV~~D~~S~~R~~MEQGD~~V~~CSVM~~H~~ALHNHYTQ~~R~~SLSPGK

Figura 15D**XENP21588**

Cadena pesada de Fab-FC XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38618-38622) EIVL~~T~~QSPATLSASPGERVTITC~~A~~SGSV~~G~~NDVAW~~Y~~Q~~K~~PGQ~~A~~PRLL~~N~~YASHRYTGV~~P~~DRFTG~~S~~GY~~G~~TFETL~~T~~ISSVQ~~O~~SEDFGGT~~K~~VEIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLVESGGDN~~V~~KPGGS~~L~~RLSCVASGETFSNYM~~W~~NR~~O~~APGK~~G~~LE~~W~~VAE~~I~~RLYSNNYATHYAE~~S~~YGR~~E~~TISRDDSK~~K~~STLYLOM~~N~~NLKTEDTG~~Y~~YCTRYG~~N~~GGYFD~~W~~GR~~G~~T~~L~~TV~~V~~S/EPKSSD KTHTCPPCPAPPVAGPSVFL~~E~~PPKPK~~T~~ILMISRT~~P~~ETIC~~C~~VV~~V~~DVKHEDEPEVKENWYDGV~~E~~WHNAKTKPREEYCN~~N~~STYRV~~V~~SLTV~~L~~HODWLNG~~K~~Y~~T~~CKVSNKALPAPIEKTI~~S~~AKGQPREPOVYTL~~T~~ PFSREQM~~T~~KNQVKL~~T~~CLV~~G~~FYPSDIAVEWE~~S~~NGQ~~P~~NNYKTT~~P~~VLDSDGS~~F~~FLY~~S~~KLTV~~D~~SRM~~Q~~GNVFSC~~S~~VM~~H~~ALHNHYTQ~~R~~SLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38623-38632), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVL~~T~~QSPATLSASPGERVTITC~~A~~SGSV~~G~~NDVAW~~Y~~Q~~K~~PGQ~~A~~PRLL~~N~~YASHRYTGV~~P~~DRFTG~~S~~GY~~G~~TFETL~~T~~ISSVQ~~O~~SEDFGGT~~K~~VEIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLVESGGDN~~V~~KPGGS~~L~~RLSCVASGETFSNYM~~W~~NR~~O~~APGK~~G~~LE~~W~~VAE~~I~~RLYSNNYATHYAE~~S~~YGR~~E~~TISRDDSK~~K~~STLYLOM~~N~~NLKTEDTG~~Y~~YCTRYG~~N~~GGYFD~~W~~GR~~G~~T~~L~~TV~~V~~S/EPKSSD KTHTCPPCPAPPVAGPSVFL~~E~~PPKPK~~T~~ILMISRT~~P~~ETIC~~C~~VV~~V~~DVKHEDEPEVKENWYDGV~~E~~WHNAKTKPREEYCN~~N~~STYRV~~V~~SLTV~~L~~HODWLNG~~K~~Y~~T~~CKVSNKALPAPIEKTI~~S~~AKGQPREPOVYTL~~T~~ PFSREQM~~T~~KNQVKL~~T~~CLV~~G~~FYPSDIAVEWE~~S~~NGQ~~P~~NNYKTT~~P~~VLDSDGS~~F~~FLY~~S~~KLTV~~D~~SRM~~Q~~GNVFSC~~S~~VM~~H~~ALHNHYTQ~~R~~SLSPGK

Cadena ligera XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38633-38637) D~~I~~QMTOSPATLS~~V~~TPGEKV~~T~~TC~~Q~~ASDIGNYL~~N~~WFQ~~K~~PDOTPKL~~L~~YYT~~S~~ERHSGVPSRFSGSG~~G~~TY~~T~~FT~~T~~ISSLEAD~~A~~ATYFCQ~~Q~~Q~~G~~NTLPY~~T~~EGG~~G~~T~~K~~VEIK/RTYAAPS~~V~~FI~~F~~PPSDEQLKSG TASVVC~~L~~NNFY~~P~~REAKVQ~~W~~KV~~D~~NA~~L~~Q~~S~~NSQ~~E~~SY~~T~~EDDSKD~~T~~SY~~S~~ST~~T~~SKAD~~Y~~E~~K~~H~~V~~Y~~A~~CH~~T~~Q~~G~~ISSP~~V~~TK~~S~~FR~~G~~C

Figura 15E (LAG-3 X PD-1)**XENP22123**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022123 2A11_H1_L1.194_Fab-1G6_L1.12.122_EVOLYQSGAEVKPGATVKISCAFSGENIKDYMWQAPKGKLEMWGWLPEENGDEYAPKEGRVTITADISTNTAYMELSSRLSEDFTAVYYCYARGVRQALDWGQGTLYTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDTEPEFVTWSWNSGALTSGVHTEPAVLQSGIYSLSSVYTPESSTAGTOTOYICVNHNKPDSOTKVDKVKEPKSDRTHTCPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVSLTVHQDWLNGKEYKCKVSNAKALPAPIEKIISKRGQPREPOVTLPSREEMTKNQVSILTCDSGFYPSDIAVEWESESDGQ PENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWEQGYFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-Fc XENP022123 2A11_H1_L2_122_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38643-38652, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708) EIVLTQSPATLSSASPGERVLTICRASOSVGNDVAMWQAPKGQAPRLLINYASHRYTGVPDRFTGSGYGTGEGFTLTISSYCOODESSERTFEGGTKVETIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVOLYQSGAEVKPGATVKISCAFSGENIKDYMWQAPKGKLEMWGWLPEENGDEYAPKEGRVTITADISTNTAYMELSSRLSEDFTAVYYCYARGVRQALDWGQGTLYTVSS/ASTKGPSVFP KTHTCPPCAPPVAGPSVLEPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVSLTVHQDWLNGKEYKCKVSNAKALPAPIEKIISKRGQPREPOVYTLPSSREQMTKRNQVKLTCLVKGKFYPSDIAVEWESENQZPENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWQGGNFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP022123 2A11_H1_L2_122_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38653-38657) DIQMTQSPAFLSVTPEGKVTITCQAQSODIGNYLNFEQQKPGQTPKLLIYTTSRHSGVPSRFSGSGTDTFTTISLEADAATYFCOQNTLIPYTFGGTKVETIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQIKSG TASVYCLINNEYPREAKVQWVYDNAQLQSGNSQESTEQDSKDSYTSLSSTLSDKSYTQVSVLHOGLOSSPFYKSAEVTQHGLSSPFYKSFNRGECPENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWEQGYFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 15F**XENP22124**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022124 2A11_H1_L2_123_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38658-38662) EIVLTQSPATLSSASPGERVLTICRASOSVGNDVAMWQAPKGQAPRLLINYASHRYTGVPDRFTGSGYGTGEGFTLTISSYCOODESSERTFEGGTKVETIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLYQSGAEVKPGATVKISCAFSGENIKDYMWQAPKGKLEMWGWLPEENGDEYAPKEGRVTITADISTNTAYMELSSRLSEDFTAVYYCYARGVRQALDWGQGTLYTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDTEPEVFTWSWNSGALTSGVHTEPAVLQSGIYSLSSVYTPESSTAGTOTOYICVNHNKPDSOTKVDKVKEPKSDRTHTCPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVSLTVHQDWLNGKEYKCKVSNAKALPAPIEKIISKRGQPREPOVYTLPSSREQMTKRNQVKLTCLVKGKFYPSDIAVEWESENQZPENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWQGGNFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-Fc XENP022124 2A11_H1_L2_123_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38663-38672, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708) EIVLTQSPATLSSASPGERVLTICRASOSVGNDVAMWQAPKGQAPRLLINYASHRYTGVPDRFTGSGYGTGEGFTLTISSYCOODESSERTFEGGTKVETIK/GKPGSGKPGSGKPGS/EVOLYQSGAEVKPGATVKISCAFSGENIKDYMWQAPKGKLEMWGWLPEENGDEYAPKEGRVTITADISTNTAYMELSSRLSEDFTAVYYCYARGVRQALDWGQGTLYTVSS/ASTKGPSVFP KTHTCPPCAPPVAGPSVLEPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVSLTVHQDWLNGKEYKCKVSNAKALPAPIEKIISKRGQPREPOVYTLPSSREQMTKRNQVKLTCLVKGKFYPSDIAVEWESENQZPENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWQGGNFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP022124 2A11_H1_L2_123_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38673-38677) DIQMTQSPAFLSVTPEGKVTITCQAQSODIGNYLNFEQQKPGQSPKLIIYTTSRHSGVPSRFSGSGTDTFTTISLEADAATYFCOQNTLIPYTFGGTKVETIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQIKSG TASVYCLINNEYPREAKVQWVYDNAQLQSGNSQESTEQDSKDSYTSLSSTLSDKSYTQVSVLHOGLOSSPFYKSAEVTQHGLSSPFYKSFNRGECPENNYKTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWEQGYFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 15G (LAG-3 X PD-1)

XENP22125

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022125 2A11_H1_L2_124 Fab-1G6 H1_194 H1_279 (Id. de sec. n.º 38678-38682) EIVQLVQSGEEVYKRPGATVKISCKTASIGENIKDYMMWYQOAPGKGGLEMWGWIIDPENGDTTEYAPFKFQGYTITADTSNTAMESSLRSEDAVTAYCYARGVRQALDYWGOTTIVSS / ASTKGPSVFP LAPSSKSKSTSGTAA~~L~~GCLVKDYEPELETVTWSNSGALTSGVHTPEAVLOSSGLYSLSSVUTPSSSLIGCITYICVNHHKPSDTKVKVEPKSCDKTHTCP~~C~~PAFPVAGPSVTFPEKPKDTLMISRTP EVTCAVVVDKHEDEPVKENWYDGT~~E~~VENAKTKPREEYNSTYRVSVSLLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI~~S~~KAGQPREPOVYTLPSREEMTNQVSLLTCDVSGFYPSDI~~A~~VEWE~~LS~~DGQ PENNYKTT~~P~~VLDSDGFFFLYSKLTVDKS~~R~~MEQGDFSCSVMHEALTHNHYTQSKL~~S~~PGK

Cadena pesada de scfv-Fc XENP022125 2A11_H1_L2_124_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38683-38692, enlazador descrito como SEQ ID NO-37708) EIVLTQSPATL~~S~~ASPGERVLT~~T~~CRASQSGNDVANTO~~K~~PGAO~~P~~RLIN~~Y~~ASHRY~~T~~GPDRFTGSGY~~G~~TEFTLT~~I~~SSVQ~~S~~EDFGVYCCQDEFSSRT~~F~~GGT~~K~~VEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLV~~E~~SGGGLV~~K~~PGGS~~L~~RLSCV~~A~~SG~~F~~ETFSNYMMNNWRQAPGKGLEWVAEIRLYSNNYATHYAESTYKGRFTISRDDSKS~~K~~STYLQMN~~N~~LKTEDTGYYCTRYGNYGGYFDWGRGLTV~~V~~SS/EPKSSD KTHTC~~C~~FCAPPVAGPSVFL~~P~~PKDTLMISR~~P~~TE~~H~~DP~~E~~VKENWYDGV~~E~~VHNA~~K~~KPREEQ~~N~~STYRVSV~~S~~VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI~~S~~KAGQPREPOVYTLPPSREEMTNQV~~K~~LSL~~S~~PK

Cadena ligera XENP022125 2A11_H1_L2_124_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38693-38697) DIQM~~T~~QSPAFLSVT~~P~~GEKV~~T~~ITCQA~~S~~QD~~I~~GNYL~~N~~W~~F~~Q~~K~~PGK~~V~~PKL~~L~~Y~~T~~SR~~L~~SGVPSR~~F~~SGSG~~T~~DYTETISSLAEADAATYEC~~Q~~ENT~~L~~PY~~T~~GGGT~~K~~VEIK/RTV~~A~~APS~~V~~E~~L~~FFPSDEQ~~I~~KSG~~C~~ TASV~~U~~CLINNFY~~P~~REAKVQW~~K~~V~~D~~NALQSGNSQEST~~E~~QDSKD~~S~~TYSL~~S~~TT~~L~~SKADY~~E~~KKVIA~~C~~EV~~T~~HQGLSSP~~V~~TKSEN~~R~~GC

Figura 15H

XENP22604

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022604 7G8 H3_30 L1_34-1G6 L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38698-38702) EIVLYESGGGLVQPGGSL~~L~~ELSCAASGFTFDDA~~N~~~~M~~WROAPGKGLEW~~A~~ETIST~~K~~ANNHATT~~Y~~AESV~~K~~GR~~E~~IT~~I~~SD~~R~~ESSVY~~V~~Q~~N~~NSL~~I~~RAE~~D~~DTAVYYC~~T~~RI~~A~~T~~W~~D~~X~~Y~~E~~TDW~~G~~Q~~T~~TV~~V~~SS/ASTKG~~G~~ S~~V~~FLPLASSK~~K~~STSGGTA~~A~~LGCL~~V~~KD~~Y~~FP~~E~~PTV~~S~~W~~M~~IGALTSGVHT~~F~~PA~~T~~Q~~S~~GLY~~L~~SSV~~V~~Y~~P~~SS~~S~~LTG~~T~~Q~~O~~T~~Y~~IC~~N~~Y~~N~~HKPSDTKVDK~~Y~~EF~~S~~CDKTHTCP~~C~~PCP~~A~~PPVAGPSVFL~~F~~PPKPKDTLMIS DGQPENN~~Y~~KK~~T~~PPVLDSDG~~S~~FFLYSKLTVDK~~S~~MEQDV~~F~~SCSVMHEALTHNHYTQ~~K~~SL~~S~~PGK

Cadena pesada de scfv-Fc XENP022604 7G8 H3_30 L1_34-1G6 L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 37708) EIVLTQSPATL~~S~~ASPGERVLT~~T~~CRASQSGNDV~~Y~~Q~~K~~PGAO~~P~~RLIN~~Y~~ASHRY~~T~~GPDRFTGSGY~~G~~TEFTLT~~I~~SSVQ~~S~~EDFGVYCCQDEFSSRT~~F~~GGT~~K~~VEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLV~~E~~SGGGLV~~K~~PGGS~~L~~RLSCV~~A~~SG~~F~~ETFSNYMMNNWRQAPGKGLEWVAEIRLYSNNYATHYAESTYKGRFTISRDDSK~~K~~STYLQMN~~N~~LKTEDTGYYCTRYGNYGGYFDWGRGLTV~~V~~SS/EPKSSD KTHTC~~C~~FCAPPVAGPSVFL~~P~~PKDTLMISR~~P~~TE~~H~~DP~~E~~VKENWYDGV~~E~~VHNA~~K~~KPREEQ~~N~~STYRVSV~~S~~VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI~~S~~KAGQPREPOVYTLPPSREEMTNQV~~K~~LSL~~S~~PK

Cadena ligera XENP022604 7G8 H3_30 L1_34-1G6 L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38713-38717) DIVLTQSP~~S~~LSASVGDE~~V~~ITCRASQSV~~D~~YDGD~~S~~YMMWYQ~~K~~PGK~~P~~KL~~I~~LYAASELESG~~T~~PAR~~S~~SGSG~~T~~GT~~D~~FTL~~T~~ISSLOPED~~A~~TYC~~Q~~QS~~N~~EDPFT~~G~~SG~~T~~KE~~I~~K/RTVAAPS~~V~~TFIFPSDEQ LKSGTASVVCLNNNFYPEAKVQMKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD~~S~~TYSL~~S~~TT~~L~~SKADY~~E~~KKVIA~~C~~EV~~T~~HQGLSSP~~V~~TKSEN~~R~~GC

Figura 15| (LAG-3 X PD-1)

XENP22672

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022672 2A11 HI.144 J2.142. Fab-1G6 HI.1.194 HI.279 (Id. de sec. n.º 38718-38722) EVOVLYQOSGAEVKKPGATVKLSSKASGENIKDYEMWKOAPKGKLEMGNIDELIGDTEYAPKFOGRVTITADTSNTAYMELLSURESDTAVYCYARGYYQALDYGQGTIVTSS /ASTKGPSVFP LAPPSSKSSTSGTAALGCLVDEPEPVTWSNNSGATLSSVUHTPAVLOSSGLYSSVTTVPPSSSLGTOTICNYNHKPSTDTKYDKWEPKSCDKTHTCPPCPAAPPVAGPSVLEPPKPKDTIMISRTP EVTYCTVYDVKE DPEVKRWWYDGVHEVNAAKTPREEYNSTYRVSVSLLVHODWMLNQHDFKQVYTLPPSREEMTKNQSYSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQG QPCK

Sadenna pesada de scFv-FC XENP022672_2A11_H1.144_L1.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279 (Id. de sec. n.º 38723-38732, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 337708)

37708(1)

adenina ligera XENP022672 2A11_H1_144_12_142_Fab-1G6_H1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38733-38737) DQDNTQSFAFLSVTPGEKVLTICQAOSDIGNYNNFQKREGOTVKLLIYTYSIHSGGVPSRFGSGSGTDTYETGGSTKVELK/RTVAAPSVEFPPPSDEQLKSG TASYSVCILNNNFYPREAKYQKVDNALQSGNSOEVSYTEDSKDSTSLSSTTISADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSENRRGEC

Figura 15J

ENP328M7

Cadenas pesadas de Fab-Fc XENP022847_7G8_H3_30_L1_34_FAB-1G6_L1_194_H1_279_scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38738-38742) con una longitud de 130 nm y una anchura de 10 nm. La cadena pesada consta de 166 aminoácidos y la cadena ligera de 44. La secuencia de la cadena pesada es:
MILIGCLVADYFPEPTVTWSNSGALTSCVTRTPEPVQVLSRLLSSVYVTESSLGFTOTIICNYNHKESTIKVDRKVEPKSDKTITSEPCPAEPAGESTLEPPFKDUMISRTETVTCVYDVYKHDPEVKWVYDVGEVHNKAKTKPREEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKEYRKCKYSNKAALAPIERLKSKAKGQPREFQVYTLFPRFEMIENQVSLTCDSGHYPSPDIAVEWESEDCOPENNYKTTPPYLDSGDFFLYSKLTVDKSWEQGDYSCSYLHEAASSHYTOKSLSLSPKG

en la mejor calidad de conservación vendido en 2007 en la ciudad de Monterrey, Nuevo León.

d. de sec. n. o. : 37708) DEUTEROPATIUS PTEROPTEROSINNITRICEA
d. de sec. n. o. : 37708) DEUTEROPATIUS PTEROPTEROSINNITRICEA

adena ligera XENPO22847 7G8_H3_30_L1_34_Pab-1G6_H1_279_scFv M4281/N4345 (Id. de sec. n.º 38753-38757) RIVLQTQPESSLSAASVGDPTVITCPASQSVD_DGDSYNNWYQQPKGPKRLLIYAAELESGIPARFSGSGSDFTFLTSSLQPEDFATYICQOSNEDEFITFGSGTASWVCILNNFY BREAKAYKQKVDAALSGSIOSEYEDQSKDUTSYLSLSTLTISKADEFTHAVYAYATEVHOGSSPVTKEFNRC

Figura 15K (LAG-3 X PD-1)**XENP22849**

Cadena pesada de Fab-FC XENP022849 2A11_H1_144_L2_142_Fab-1G6_L1_194_H1_279 scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38758-38762) EVQLVQSGAEVKKPAGATVKISCRASGENIKDYFMMWYQQAPGKLEWMGMIDPELIGDTEYAPKEQGRWVITADTSTNAYMEISSLRSEDTAVYYCYARGVYQALDWGQTLTVTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKKSTSGGTAAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVVTVPSSSLGQTQTYICNVNHNKPSTDVKVEPKSCDTHTCPPCPAPPVAGSYFELFPPPKPDITLMSRTFP EVTVCVVDVXKHEDPEVKFNWYTDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTFLHODWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKTSKAKGQPREFQVYTLPSREEMTKNQVSLTCDWSGFYPSDIAVEWESDGQ PENNYKTTPPVLDGSFFFLYSKLTVDKSRNEQGDYFSCSVLHEAHSHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP022849 2A11_H1_144_L2_142_Fab-1G6_L1_194_H1_279_scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38763-38772, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)

EIVLTQSPATLISASPGERVILITCRASOSGNNDAYWYQQKPGQAPELLNAYASHRITGVFDRTFGSGYGTGEFTLTISQSEDFGVYCCQDESSRTFEGGGTKVEIK/GKRGSGKPGCSCKECSGKPGAS/EVQLVNEGGGLVKPGGSLRLSCVAGFTFSNYNNNNWROAPGKGLEMWAFIRLYSNNYATHIAESVKGRTFTISRDDSKSTLYLQMNUNLKTEDTGWVYCTRYGNYGGYFDWGRGTLVTVSS/EFKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVTELPPPKPDITLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINNSTRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREFQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCVKGEXPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGCFFLYSKLTVDKSRMQQGNVFSCSVLHEAHSHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP022849 2A11_H1_144_L2_142_Fab-1G6_L1_194_H1_279 scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38773-38777) DIQMHQSPAPFLSVTPGEKVITCQASODIGNYLWVQQKPGQTVKLLYFTSYLHSGVPSRFRSGSSGTDYTFETISSEADEAATYFCQOQNTILEYTFGGGTKVVEIK/RTVAAPSVFIEPPSDEQLKSGTASVVCCLINNEYPREAKVQKVDNALQSNSQESTEQDSKDSITYSLSSSTLLSKADYEKHYKYYACEVTHQGLSSPTKSFNRGEC

Figura 16A (BTLA X PD-1)

XENP20895

Cadena pesada de Fab-Fc XENP020895 9C6_H010_1G6_L1.194_H1.279 (Id. de sec. n.º 38778-38782) QVOLKESSGPGLAVPSQLSITCCTVSGFSLTGYGVNWTROPPGKGLEWLGMIWLDNSALSKRSRLSINKDNSSKSQVFLKMNSLQIDDTARYCCARDPDRGDAMDXYQGQTSTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSSKSTSCTAALGCLVLDYFPEPVTSWNSGALSGVHTFPAVLOSSGLYSSVVTYPTSSSLGTOTYICVNWNHKPDSKTHTCPCPAVTPAGPSVFLPPPKDITMISRTPLAIEKTTISAKGQPREPVYTLRPSREEMTKNQVSLTCDFGSFYPSDIAWEWSDGQ PPEPNYYKTTPPVULDSGSSFELYSKLTVDSRWEQGDVSCSVNHEALHNHYTOKSLSLSPKG

Cadena ligera XENP020895 9C6 H01-1G6 L1_1194 H1_279 (Id. de sec. n.º 38793-38797) RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT

Figura 16B

GENP24220

ZENP0021220 906 H1.1 L1-1G6 L1.194 H1.279 Cadena pesada scfv-fc (Id. de sec. n.º 38803-38812), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 3770 ZENP0021220 906 H1.1 L1-1G6 L1.194 H1.279 Cadena pesada scfv-fc (Id. de sec. n.º 38803-38812), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 3770

bladerna ligera XENPO21220 9C6_H1_1_11-1G6_H1_1.194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38813-38817)
IMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVNSNDYIYQOKPGOSPKLILYYASNRRTGVPDRFTGSGYGTDELTISSTSSQOQDYSSPTFGGGTKLEIR/RTVAAPSVFTEPPSDEQKSGT
SWVCCLNNFYPREAKYQWVNDALQSGNSQESVTEQDSRDKSTSYLSSTTISKADYEKHKVAYCEETHQGSSSEVTKSFRGECA

Figura 16C (BTLA X PD-1)**XENP21221**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP021221 9C6_H1_11_L1-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38818-38822) QVQLVQSCFEEVKKPGASVKVSKYSGFSLITGYGVNWRQAPGQGLEWMGMWIDGSTDYNSKFQGRFLINKDINSKSTVMEELSSIRSEDIAVYICARERPDGTMDFWQGCTMTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGCTAAALGCLVKDYFPEPYTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGQTQYICNVNHHKPSTTKVDKVEPKSCDTHTCPPCPAPPVAGISWLFPPKPKDTLMISRTP EYTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTTISAKGQPREPQVTLFESREEMTKNOVSLLTCDVSGFYPSPDLAVEMESDGQ PENNYKTTFPUVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRSWEQCDYEVCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena pesada scFv-FC XENP021221 9C6_H1_11_L1-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38823-38832, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVLITQSPATLSSASPGERVTLTCRASQSVGNNDVANQOKPGQAFLRLLINTYQAPGQGLEWMGMWIDGSTDYNSKFQGRFLINKDINSKSTVMEELSSIRSEDIAVYICARERPDGTMDFWQGCTMTVSS/ASTKGPSVFP EYQLVSEGGGLVKPGGSLRLSCVAGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWAETRLYSNNYATHYAESVYKGRFTISRDDSKSSTLYLQMNNLKTEDTGVYCYTRYGNYGGYDHWGRGLTVTVSS/EPKSSD KTHICPPCDAAPPVAGPSVLEPPKPKDTLMISRPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTTISAKGQPREPQVYTLL PPSREQMTKQVKITCLVKGEFYSDIAVEMEWSNGQFENNYKTTFPUVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRSWEQCDYEVCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP021221 9C6_H1_11_L1-1G6_L1_194_H1_279 (Id. de sec. n.º 38833-38837) SIVMTQSPPLAVSLGERATINGKASQSVSNDVANQOKPGQSPKLILYASNRYTGVPDRFTGSGYTDFTLTISSLQAEDEVYFCQODYSSETEGGGTKEIK/RVVAAPSVFIEPPSPDEQIKSQT ASVVCILNNFYPREAKVQKVNALQSGNSOESEVTFQDSKDTSYLSSTTISAKDYEKHKVZACVTHQGLSSPVTKSTNRGEC

Figura 16D**XENP22858**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP022858 9C6_H1_1_L1_FAB-1G6_L1_194_H1_279_SCFV M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38838-38842) QVQLIKEVGAEVKKPGASVKVSKYSGFSLITGYGVNWRQAPGQGLEWMGMWIDGSTDYNSKFQGRFLINKDINSKSTVMEELSSIRSEDIAVYICARERPDGTMDFWQGCTMTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGCTAAALGCLVKDYFPEPYTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGQTQYICNVNHHKPSTTKVDKVEPKSCDTHTCPPCPAPPVAGISWLFPPKPKDTLMISRTP EYTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTTISAKGQPREPQVTLFESREEMTKNOVSLLTCDVSGFYPSPDLAVEMESDGQ PENNYKTTFPUVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRSWEQCDYEVCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-FC XENP022858 9C6_H1_1_L1_FAB-1G6_L1_194_H1_279_SCFV M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38843-38852, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EIVLITQSPATLSSASPGERVTLTCRASQSVGNNDVANQOKPGQAFLRLLINTYQAPGQGLEWMGMWIDGSTDYNSKFQGRFLINKDINSKSTVMEELSSIRSEDIAVYICARERPDGTMDFWQGCTMTVSS/ASTKGPSVFP EYQLVSEGGGLVKPGGSLRLSCVAGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWAETRLYSNNYATHYAESVYKGRFTISRDDSKSSTLYLQMNNLKTEDTGVYCYTRYGNYGGYDHWGRGLTVTVSS/EPKSSD KTHICPPCDAAPPVAGPSVLEPPKPKDTLMISRPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTTISAKGQPREPQVYTLL PPSREQMTKQVKITCLVKGEFYSDIAVEMEWSNGQFENNYKTTFPUVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRSWEQCDYEVCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGK

Cadena ligera XENP022858 9C6_H1_1_L1_FAB-1G6_L1_194_H1_279_SCFV M428L/N434S (Id. de sec. n.º 38853-38857) SIVMTQSPPLAVSLGERATINGKASQSVSNDVANQOKPGQSPKLILYASNRYTGVPDRFTGSGYTDFTLTISSLQAEDEVYFCQODYSSETEGGGTKEIK/RVVAAPSVFIEPPSPDEQIKSQT ASVVCILNNFYPREAKVQKVNALQSGNSOESEVTFQDSKDTSYLSSTTISAKDYEKHKVZACVTHQGLSSPVTKSTNRGEC

Figura 17A**XENP20153**

Cadena pesada de Fab-Fc XENP020153 2A11_H1L2-[CTLA-4]_H3_4_L0_12 (Id. de sec. n.º 38855-38862) EVQLVQSGEVKKPGATVKLSRASGENIKDYMMWQOAPGKGLLEWMGWIIDENGDTYEAPKFCQCRVITADTSTNTAYMEISSLRSEDTAVYYCYARGVROALDYGQGTIVTSS/ASTTKGPSYFP LAPSSKSSTSGGTAALGCLVKDYFPEEVTWSWNSGGALTSQVHTPAVLQSSGTYSLSSVVTVPSSS1GQTQYICCNVNHKPDTDKVKEPKSDKTHTCPCPAPFVGPSPVFLFPPKEKDTUMISRTTP EVCVWVWDYXHEDEPEVKFNWYDGYEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKTSKAKGQPREFOVTLFESREEMTRNQVSILTDSGFYPSDIAVEWESDQQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLISPGK

Cadena pesada de scfv-FC >XENP020153 2A11_H1L2-[CTLA-4] H3_4_L0_12 (Id. de sec. n.º 38863-38872, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCASGFTSSYTMEWTRQAPGKGLEWVSEFTSYDGNHKKYADSVYKGRFTISRDNAKNSLYLOMNSLAEDTAVYYCARTGHGLPFDIMQGOTMTVSS/GKPGSGRPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLSVSGERATLSQSGSSYLLAWQOKKGQAPRLLIYAGSRSATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEWTFQGQTKEIK/EPKSSDKTH TCPFCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCYVYDVKEDEPEVKENWYDGVHEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKTSKAKGQPREFOVTLFPPS REQTMENQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLISPGK

Cadena ligera >XENP020153 2A11_H1L2-[CTLA-4] H3_4_L0_12 (Id. de sec. n.º 38873-38877) DIQMTOQSPFLSVTPGEKVITRQASQDIGNYLNTFEQQKPDQTWKLLIYXTSRLHSGVPSRFSGSSGTIDYTFETISSLEADAATYFCQCGNTLEYTEGGGTKEVIEK/RTVAAPSVEIFEPSPDEQIKSG TASVVCCLNNFYPREAKQWVQYDNAQSNSQESTEQDSKRDSTYSLSSTSILS KADYEKHYTAZEVTHQGLSSPVTFSNRGECA

Figura 17B**XENP20833**

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38878-38882) EVQLVSGGGLVQPGGSLRLSCASGFTESDAMWVROAPGKGLLEWVSEFTSYDGNHKKYADSVYKGRFTISRDNAKNSLYLOMNSLRAEDTAVYYCARTGHGLPFDIMQGOTMTVSS/ASTTKGPS EVQLVSGGGLVQPGGSLRLSCASGFTSSYTMEWTRQAPGKGLEWVSEFTSYDGNHKKYADSVYKGRFTISRDNAKNSLYLOMNSLRAEDTAVYYCARTGHGLPFDIMQGOTMTVSS/GKPGSGRPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLISLSPGERATLSQSGSSYLLAWQOKKGQAPRLLIYAGSRSATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEWTFQGQTKEIK/EPKSSDKTH TCPFCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCYVYDVKEDEPEVKENWYDGVHEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKTSKAKGQPREFOVTLFPPS REQTMENQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLISPGK

Cadena pesada de scfv-FC >XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTLA-4] H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38883-38892, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVQLVSGGGLVQPGGSLRLSCASGFTSSYTMEWTRQAPGKGLEWVSEFTSYDGNHKKYADSVYKGRFTISRDNAKNSLYLOMNSLRAEDTAVYYCARTGHGLPFDIMQGOTMTVSS/GKPGSGRPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLISLSPGERATLSQSGSSYLLAWQOKKGQAPRLLIYAGSRSATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEWTFQGQTKEIK/EPKSSDKTH TCPFCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCYVYDVKEDEPEVKENWYDGVHEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKTSKAKGQPREFOVTLFPPS REQTMENQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLISPGK

Cadena ligera >XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTLA-4] H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38893-38897) DFLIQSPSILSASVGDRVTICRASQSVDYDGDSYMWYOCKPGKPKLIIYAAASNLESGIPARLSGSGSTDFTIATISSIOPEDAFATYCOOSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVEIFEPSPSDEQ IKSGTIASVVCLNNFYPREAKQWVQDNAQSNSQESTEQDSKRDSTYSLSSTLTSKADYEKHYTAZEVTHQGLSSPVTFSNRGECA

Figura 17C

XENP21859

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP021859 2A11_H1_L2_47_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38902) EVOLVOSGAEVKKPGATVKISCAASGFNIKDYMEWVQOAPGKGLENMGWIDPENGDETEYAPKEFGRVTITADTSTNTAYMELSSRLSEDATAVYYCYARGVROALDWGOGTLVTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDVEPEFTVSWNSGAJLTSGVHTFPAVLOSSGYSLSVVTPSSSLGTOTYICVNHHFEPSTDKVDKVKEPKSCDKTHTCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPDKDTMISRTTP EYTCVYVDWKHEDEPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISAKGQPREPVYTLPPS PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena pesada de scfv-Fc >XENP021859 2A11_H1_L2_47_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38912, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)

EVQLVSEGGGLVKPGGSLRLSCASGGTFFSSYTMHWVQAPGKGLEWVSTISYDGNKYKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSSLRAEDTAVYYCARGGHILGPFDLMQGTMVTVSS/GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTOSPATLSSLSPGERATLSCASQSVGSSYLAWQOKGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYYCOQGSSSEWTAGQGTKEV1K/EPKSSSDKTH TCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPDKDTMISRTPEVYDVGVEVHNAKTKPREEYNTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISAKGQPREPVYTLPPS REQMTKNQVKLTCLVKGKFYPSDIAVEWESNGOPENYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena ligera >XENP021859 2A11_H1_L2_47_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38913-38917) DIQMIGSPAFLSVTPEGKVHTICQASQDIGNYLNWFOQQPKDPQTWKLLIYTSHLHSGVPSRFSGSGTDYTFITISLEEDAATYFCQGNTLTYFGGGTKEV1K/RIVAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCILNNFYPREAKVQWVNDALQSGNSQESTEQDSKDKSTSYSSLSSSTLTSKADYERKHYVACEVTHQGLSSPFVKSFRNGEC

Figura 17D

XENP21860

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP021860 2A11_H1_L2_50_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38922) EVOLVOSGAEVKKPGATVKISCAASGFNIKDYMEWVQOAPGKGLENMGWIDPENGDETEYAPKEFGRVTITADTSTNTAYMELSSRLSEDATAVYYCYARGVROALDWGOGTLVTVSS/ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDVEPEFTVSWNSGAJLTSGVHTFPAVLQSSGTYSLSSVVTVPSSSLGTOTYICVNHHFEPSTDKVDKVKEPKSCDKTHTCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPDKDTMISRTTP EYTCVYVDWKHEDEPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEYNTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISAKGQPREPVYTLPPS PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena pesada de scfv-Fc >XENP021860 2A11_H1_L2_50_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38932, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)

EVQLVSEGGGLVKPGGSLRLSCASGGTFFSSYTMHWVQAPGKGLEWVSEISYDGNKYKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSSLRAEDTAVYYCARGGHILGPFDLMQGTMVTVSS/GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTOSPATLSSLSPGERATLSCASQSVGSSYLAWQOKGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYYCOQGSSSEWTAGQGTKEV1K/EPKSSSDKTH TCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPDKDTMISRTPEVYDVGVEVHNAKTKPREEYNTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISAKGQPREPVYTLPPS REQMTKNQVKLTCLVKGKFYPSDIAVEWESNGOPENYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena ligera >XENP021860 2A11_H1_L2_50_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 38933-38937) DIQMIGSPAFLSVTPEGKVHTICQASQDIGNYLNWFOQQPKDPQTWKLLIYTSHLHSGVPSRFSGSGTDYTFITISLEEDAATYFCQGNTLTYFGGGTKEV1K/RIVAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCILNNFYPREAKVQWVNDALQSGNSQESTEQDSKDKSTSYSSLSSSTLTSKADYERKHYVACEVTHQGLSSPFVKSFRNGEC

Figura 17E

XENP21895

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP021895_7G8_H3_18_L1-[CTLA-4]_H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38938-38942) EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFFDAWMWVRQAPGKGLEWAETSTKANNHATYYAESYKGRFTISRDDSSKVYLOMNSLRAEDTAVYYCTRLATMDWYDYGQGTTVTVSS/ASTKGPS VEPLIASSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSNIGALTSGVHTFPAVLQSLSSVYTPSSSLGTOTYICNTHKEPSDTKVDKRYTEPKSDDKTHCPCPAPPAGPSVFLFPRPKDFTMIS RTPEVTCVVVDKIEDPEVKENWYDGEVHNAAKTKPREEYNSTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTRKNQVSLICDVGFYPSDIAVEWES DGQOPENNYKTTPPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRMEQDVFSCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-Fc >XENP021895_7G8_H3_18_L1-[CTLA-4]_H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38943-38952), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSYYTMMWVRQAPGKGLEWAETSTKANNHATYYAESYKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHILGPFDLMQGTMVTVSS/GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTOSPATLSPGERATLSCASQSVGSSYLAWSQKCGOAPRLLYGAASSPATGIDPREFSGSGSTDFLTISRLPEDEAVYYCOQYGSSPWTFGQGTTVKEIK/EPKSSDKTH TCPCPAPPAGPSVFLFPRPKDFTMISRTPEVTCVVVDKIEDPEVKENWYDGEVHNAAKTKPREEYNSTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTRKNQVSLICDVGFYPSDIAVEWES REQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTIPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRMEQDVFSCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP021895_7G8_H3_18_L1-[CTLA-4].._H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38953-38957) DTVLITQSPSILSASVGDRVTITCRAQS_QSYDQGDYDGDYYQKPGKPPKLIYAAASNLEGIAPARLSGSQGTDFLTISLQLQPEDATYCCQSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWVYDQSESVTEQDSKDSTYSLSTLISKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSENRC

Figura 17F

XENP21896

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP021896_7G8_H3_18_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38958-38962) EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFFDDAWMWVRQAPGKGLEWAETSTKANNHATYYAESYKGRFTISRDDSSKVYLOMNSLRAEDTAVYYCTRLATMDWYDYGQGTTVTVSS/ASTKGPS VEPLIASSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSNIGALTSGVHTFPAVLQSLSSVYTPSSSLGTOTYICNTHKEPSDTKVDKRYTEPKSDDKTHCPCPAPPAGPSVFLFPRPKDFTMIS RTPEVTCVVVDKIEDPEVKENWYDGEVHNAAKTKPREEYNSTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTRKNQVSLICDVGFYPSDIAVEWES DGQOPENNYKTTPPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRMEQDVFSCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv-Fc >XENP021896_7G8_H3_18_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38963-38972), enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSYYTMMWVRQAPGKGLEWAETSTKANNHATYYAESYKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHILGPFDLMQGTMVTVSS/GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTOSPATLSPGERATLSCASQSVGSSYLAWSQKCGOAPRLLYGAASSPATGIDPREFSGSGSTDFLTISRLPEDEAVYYCOQYGSSPWTFGQGTTVKEIK/EPKSSDKTH TCPCPAPPAGPSVFLFPRPKDFTMISRTPEVTCVVVDKIEDPEVKENWYDGEVHNAAKTKPREEYNSTYRVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTRKNQVSLICDVGFYPSDIAVEWES REQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTIPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRMEQDVFSCSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP021896_7G8_H3_18_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_10_129 (Id. de sec. n.º 38973-38977) DTVLITQSPSILSASVGDRVTITCRAQS_QSYDQGDYDGDYYQKPGKPPKLIYAASELEGIAPARLSGSQGTDFLTISLQLQPEDATYCCQSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWVYDQSESVTEQDSKDSTYSLSTLISKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSENRC

Figura 17G**XENP21902**

Cadena pesada de Fab-FC >XENP021902 7G8 H3.23 L1.11-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 38978-38982)

EVOLYESGGGLVKPGGSIRLSRCAASGFTFDDAMWVROAPKGLEWVAEISTKANNHATYYAESSVKGRTFISRDDSSKSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPEPEPTVWSNMGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
RTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVHEVNAKTKPKEEEYNSTYRVVSVTLYKCKVSNKALPAPIEKTIKSKAGQPREPOVTLPPSREEMTKNOVSILCDVSGFYPSDIAVEWES
DGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGDVFSCSVMHEALTHNHYTOKSLSLSPKG

Cadena pesada de scFv-FC >XENP021902 7G8 H3.23 L1.11-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 38983-38992, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)

EVOLYESGGGLVKPGGSIRLSRCAASGFTFDDAMWVROAPKGLEWVAEISTKANNHATYYAESSVKGRTFISRDDSSKSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSSGERATLSCRAQSOSVGSSYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
TCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCUVDVKHEDPEVKENWYDGVHEVNAKTKPKEEEYNSTYRVVSVTLYKCKVSNKALPAPIEKTIKSKAGQPREFQVYTLPPS
REQMTKNQVKLTCLVKGFPSPDIAYEWNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQMVFSCSVMEALTHNHYTOKSLSLSPKGCadena ligera >XENP021902 7G8 H3.23 L1.11-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 38993-38997)
DTVLITQSPSLSASVGDRTITCRASQSVDYDGDSSMWYQQKPGKPPKLIYIAASELESQIPARLSGSGETDFLTTSILOPDEDATYCOQSNEDPFTGSGTKEIK/RTVAAPSVIDFPPSPSDEQ
LKSQTASVCLNNFYPREAKVQMRVNDALQSGNQSESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC**Figura 17H****XENP21904**

Cadena pesada de Fab-FC >XENP021904 7G8 H3.28 L1.1-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 38998-39002)

EVOLYESGGGLVKPGGSIRLSRCAASGFTFDDAMWVROAPKGLEWVAEISTKANNHATYYAESSVKGRTFISRDDSSKSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
VFPLASSKSTSGGTAALGCLVKDYPEPEPTVWSNMGALTSGVHTFPAVLQSGGILYSLSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
RTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVHEVNAKTKPKEEEYNSTYRVVSVTLYKCKVSNKALPAPIEKTIKSKAGQPREPOVTLPPSREEMTKNOVSILCDVSGFYPSDIAVEWES
DGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRMEQGDVFSCSVMHEALTHNHYTOKSLSLSPKGCadena pesada de scFv-FC >XENP021904 7G8 H3.28 L1.1-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 39003-39012, enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708)
EVOLYESGGGLVKPGGSIRLSRCAASGFTFDDAMWVROAPKGLEWVAEISTKANNHATYYAESSVKGRTFISRDDSSKSSVYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSSGERATLSCRAQSOSVGSSYIQLMNSLRAEDTAVYYCTRLAFLWDWYEDWVGQGTIVTVSS/ASTKGPS
TCPPCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCUVDVKHEDPEVKENWYDGVHEVNAKTKPKEEEYNSTYRVVSVTLYKCKVSNKALPAPIEKTIKSKAGQPREFQVYTLPPS
REQMTKNQVKLTCLVKGFPSPDIAYEWNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQMVFSCSVMEALTHNHYTOKSLSLSPKG>Cadena ligera XENP021904 7G8 H3.28 L1.1-[CTLA-4] H3.23 L0.129 (Id. de sec. n.º 39013-39017)
DTVLITQSPSLSASVGDRTITCRASQSVDYDGDSSMWYQQKPGKPPKLIYIAASNLQSGNQSISVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC
LKSQTASVCLNNFYPREAKVQMRVNDALQSGNQSISVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC

Figura 17

XENP21905

Cadena pesada de Fab-FC >XENP021905 7G8_H3_28_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39018-39022) EVOLVESGGGVYOPGGSLRLSCAAGFTEDDAWMDWYRQA PGKGLWVAAELTTRKAYNHATYYAESVYKGRFTISRDDSKSSSYVTLQMNLSRAEDTAVYYCTRIATIWDAYFDTYNGQGTIVTVSS /ASTIKGPS RTPEFLAPSSKSTSGGTAALIGCLVKDYEPEPVTVSNNSGALTSGVHTFPAVLQSGLYSLSSVVTVPSLIGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSDKTHTCP PCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMIS DGQPENNNTKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSREQVYTLPPSREREEMTRKNOVSITCDVSGFYPSDIAVEWES

Cadena pesada de scFv-FC >XENP021905 7G8_H3_28_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39023-39032) , enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708

EVOLVESGGGVYKPGGSLRLSCAAGFTFSSYTMEWYRQA PGKGLWVAAELTTRKAYNHATYYAESVYKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTIVTVSS /GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASQSVGSSYLAQKQGPAPRLLIGASSRATGIDFRESGSGGIDFTLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEPTTQGQTKEIK/EPKSSDETH TCP PCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVYDVKHEDEPEVKENWYDVGVEVNAKTKPREEQYNTSYRVVSVTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPS REQMTKNQVKLTCLVKGGFYPSPDIATEWSNGOPENNYKTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSREQVYVSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena ligera >XENP021905 7G8_H3_28_L1_11-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39033-39037) DTVLITQSPSILSASVGDRVTITCRASQSYDGDSTNNWYQQPKGKPPKLLIYAASELESCIPARLSGSGETDFLTISLQPEDFATYCOOSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEC LKSGTASVCLNNFYPREAKYQWKRVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTSYLSLSTLSDKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC

Figura 17J

XENP21906

Cadena pesada de Fab-FC >XENP021906 7G8_H3_28_L1_13-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39038-39042) EVOLVESGGGVYKPGGSLRLSCAAGFTEDDAWMDWYRQA PGKGLWVAAELTTRKAYNHATYYAESVYKGRFTISRDDSKSSSYVTLQMNLSRAEDTAVYYCTRIATIWDYFDTWQGQTTIVTVSS /ASTIKGPS VEPPLAPRSRSTSGGTAALIGCLVYDYPEPVTVSNNSGALTSGVHTFPAVLQSGLYSLSSVVTVPSLIGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSDKTHTCP PCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCWVYDVKHEDEPEVKENWYDVGVEVNAKTKPREEQYNTSYRVVSVTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPS DGQPENNNTKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSREQVYVSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena pesada de scFv-FC >XENP021906 7G8_H3_28_L1_13-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39043-39052) , enlazador descrito como Id. de sec. n.º : 37708

EVOLVESGGGVYKPGGSLRLSCAAGFTFSSYTMEWYRQA PGKGLWVAAELTTRKAYNHATYYAESVYKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTIVTVSS /GKPGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASQSVGSSYLAQKQGPAPRLLIGASSRATGIDFRESGSGGIDFTLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEPTTQGQTKEIK/EPKSSDETH TCP PCPAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVYDVKHEDEPEVKENWYDVGVEVNAKTKPREEQYNTSYRVVSVTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPS REQMTKNQVKLTCLVKGGFYPSPDIATEWSNGOPENNYKTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSREQVYVSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

Cadena ligera >XENP021906 7G8_H3_28_L1_13-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39053-39057) DTVLITQSPSILSASVGDRVTITCRASQSVDHGDPSYMNWYQQPKGKPPKLLIYAASELESCIPARLSGSGETDFLTISLQPEDFATYCOOSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEC LKSGTASVCLNNFYPREAKYQWKRVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTSYLSLSTLSDKADYERKHYACEVTHQGLSSPVTKSFRNGEC

Figura 17K

XENP22505

Cadena pesada de scFv-Fc >XENP022505 2A11_H1.125_L2.113_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 (Id. de sec. n.º 39063-39072, enlaceador descrito como Id. de sec. n.º: 37708)

REQMTRKQVKTLCVKGFTYPSDIAVEWNSNGOPENNYKTPPYLDSFELYSKLTVDKSRWQGNVESCSYMEALTHNHYOKSLSSEPK
TCPCPAPPYGPSPVLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVWDVXKEDPEVKENWYDGVENHAKTRKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGREYKRCVSNKALPAFLEKTSKAKGQPREPVQYTLPPS
REQLVLTESGGGLYKPGSILRSLSCAASHTFSSYTMHWRQAGKCLEWFSISYDGNNYKYYADSVKGRTTISRDVAKNSLYLOMNSLRAEDTAVYCYARGGHLGPFDINGGQMTVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPSLSELTQSPATLSSLSPERATLSSCRAQSVCSSYIAYWYQOKPGQAPRLLTYGASSRATGIPDRFESSGSTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYGSSPMTFGQQTKEIK/EPKSSDTH

Cadenas ligeras >XENP022505 2A11_H1_125_L2_113_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (ID. de sec. n.º 39073-39077) DIIMQMTQSAPAFLSVTGERKVTITCOASQDIGNYLNWFOOKPDTQVKKLILYFTSYLHSGYVSRESGSG3GTDDTFTISSLEAATAYFCQOGNTLPYTFEGGGTKEIK/RTVAAPSVFIEPPSDEQLKSG TATSVVCHJNNEYFREAKVQWVKAQDNALOGNSOESVTEQDKDSTVSYTISSTTLYTSKADYERKHKVVACTVTHQCTSSDVTKSENPDCEC

Figura 17L

卷之三

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP022510 2A11_H1_1L2_25_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39078-39082)

Cadena pesada de scFv-FC >XENP022510 ZA11_H1_L2_25_Fab-[CTLA4] H3.23_L0.129 (Id. de sec. n.º 39083_39092, enlazador descrito como Id. de sec. n.º :

Cadena liger a >XENP022510 2A11_H1_L2_25_Fab-[CTLA-4]_H3_L23_I0_129 (Id. de sec. n.º 39093-39097)
DIOMIQSPAFLSVTPEKVTITCQASQDIGNHLNWEQQKPDQTVKLILYYSRSLHSGVPSRFSGSGTDXFTISSLEADAATYFCQGNTLYFEGGTYKEIK/RTVAAPSFILEPPSDEQLKSC

Figura 17M**XENP22602**

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP022602_7G8_H3_30_L1_34-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39098-39102) EVOLYESGGGLYQPGGSIRLSRCAASGFTFDDAMMSWTRQAPGKGLEWVAEISTKANNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSSSYLQMNISLRAEDTAVYCYTRLATWDWYFDWQGQTTTVSS /ASTKGPS VEPLAPSSSTSGGTTAAALGCLVQDVEPEPVTSWNNSALTSGVHTPEAVLQSSCILYSSVTPSSSIQGTTCTICNWNHKBPSDTKVDKRYKEPKCDKTHTCPGCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDQTMIS RTPEVTCVWDVKHEDEPEVKENWYDGVEVHNAKTRPEEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPOYYTLPPSREEMTRKNQYSLTCDSGFYPSDIAVEWES DGOPENNYKTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVECSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scfv-Fc >XENP022602_7G8_H3_30_L1_34-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39103-39112, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVOLYESGGGLYKPGGSIRLSRCAASGFTFSSYTMWHRQAPGKGLEWVFSFTSYDGNYKYYADSYVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNISLRAEDTAVYCYARGGHLGPFDLWQGOTMTMVSS /GKFGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSSGERATLSCRSQVGSSYLAWIQQKEGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEPTFCQGTKEIK/EPKSSDFTHT TCPCPAPVAGPSVFLFPPKPKDQTMISRTPEVTCVUDVKEHDEPEVKENWYDGVEVHNAKTRPEEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREFOVYTLPPS REQMTKNQWKLTCLVKGFYPSDIAVEWSNGOPENNYKTTPVLDSDGSFFFLYSLTVDKSRWQGMYEVSCSVMEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP022602_7G8_H3_30_L1_34-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39113-39117) DIVLITQSPSSLSASVGDRTVLTCEASQSVDYDGSYNNWYQQKPGKPPKLIJYIAASELESGIPARESGSGSTDFTLTISSIQEDFATYCYCOOSNEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIEPPSPSDEQ LKSGTASVCLNNFYPREAKYOMRKVDNALQSGNSOESVTEQDSKDDSTYSLSTTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPTKSFNRGEC

Figura 17N**XENP22675**

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP022675_2A11_H1_144_L2_142_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39118-39122) EVOLYESGGGLYQPGGSIRLSRCAASGFTFSSYTMWHRQAPGKGLEWVFSFTSYDGNYKYYADSYVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNISLRAEDTAVYCYARGVYQALDWTGQGTIVTVSS /ASTKGPSVFP LAPSSSTSGGTTAAALGCLVQDVEPEPVTSWNNSALTSGVHTPEAVLQSSCILYSSVTPSSSIQGTTCTICNWNHKBPSDTKVDKRYKEPKCDKTHTCPGCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDQTMISRTP RTPEVTCVWDVKHEDEPEVKENWYDGVEVHNAKTRPEEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPOYYTLPPSREEMTRKNQYSLTCDSGFYPSDIAVEWESDGQ PENNYKTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVECSVMHEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada de scfv-Fc >XENP022675_2A11_H1_144_L2_142_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39123-39132, enlazador descrito como Id. de sec. n.º 37708) EVOLYESGGGLVKGPGSIRLSRCAASGFTFSSYTMWHRQAPGKGLEWVFSFTSYDGNYKYYADSYVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNISLRAEDTAVYCYARGVYQALDWTGQGTIVTVSS /GKFGSGKPGS GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSSGERATLSCRSQVGSSYLAWIQQKEGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFLTISRLPEDDAVYCCQYGSSEPTFCQGTKEIK/EPKSSDFTHT TCPCPAPVAGPSVFLFPPKPKDQTMISRTPEVTCVUDVKEHDEPEVKENWYDGVEVHNAKTRPEEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREFOVYTLPPS REQMTKNQWKLTCLVKGFYPSDIAVEWSNGOPENNYKTTPVLDSDGSFFFLYSLTVDKSRWQGMYEVSCSVMEALTHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP022675_2A11_H1_144_L2_142_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129 (Id. de sec. n.º 39133-39137) DIVLITQSPAFLSVTPEGEKYNTICOASQDIGNYLNWQKPGQTVKLILYFTSYLHSGVPSRFESGSGTDTFTLSSLEADAATYFCQOGNTLEYTFGGGTKEIK/RTVAAPSVFIEPPSPSDEQLKSGC ?PREAKYOMRKVDNALQSGNSQESTEQDSKDDSTYSLSTTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPTKSFNRGEC

Figura 17O

XENP22841

Cadena pesada de Fab-Fc >XENP022841_7G8_H3_30_L1_34_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129_scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 39138-39142)
EVOLYESGELIVQPGGSIRLSRCAASGFTEDDAMNSWVROAPGKGLEWVAAEISTRKANNHATYYAESTYKGRFTISRDDSKSKEYVQGTTTVSS/ASPKGPS
VEFLAPASSKSTSGGTAALGLCLVNDYFPEPTVWSMNGALTSGVHTFPAVLOSGLYSLSSVTVYSSSLGTCTYICNUNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTCP
RTPEVTCVYVVDYKHEDEVKENYYDGVEVHNAKTKPREEEYNNTYRIVSVTIVLHQDWLNGKEYKCRVSINKALPAPIEKTLISKAGQPREQVYTLPPSREEMTKNQVSLITCDVSGFYPSDIAVEWES
DGOPENNYKTTPVLDSDGSFEULYSRKLTVDKSRBEGDVFSCSVHLHEALHSHTYQKSLSI.SPGK

Cadena pesada de scFv-Fc >XENP022841_7G8_H3_30_L1_34_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129_scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 39143-39152, enlazador descrito como
 Id. de sec. n.º : 37708)
EVQLVESGGGLVKPQGSIRLSRCAASGFTFSSYTMHWQAPGKGLEWVFSYDGNKYIADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHHLGPFDLMQGIMYTVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLISLSPGERATLSCARASOSVGSSYIYAWYQOKRGQAPRLLIGASSERATGIPDRFSGSGSGTDFLTTSRLPEDEAVYYCOQYGSSPTEFGQGTKEIK/EPKSSDRTTH
TCPGPCAPPAVAGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKNWYVVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHQDWLNGREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAGQPREQVYTLPPS
REQMTKNOVKLTLCLVKGFTYPSDIATEWEANGOPENNYKTTPFVLDSDGSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVESCSVHLHEALHSHTYQKSLSLSPGK

Cadena ligera >XENP022841_7G8_H3_30_L1_34_Fab-[CTLA-4]_H3_23_L0_129_scFv M428L/N434S (Id. de sec. n.º 39153-39157)
DIVLTQSPSILSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDSYNNWYQOKRGKPKLILYYAASELESGIPARFSGSGSGTDFLTISLIQEDFATYCCQSONEDPFTFGSGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCILLNFYPREAKYQNKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADVEKHKVYACEVTHOGLOSSPVTKSFRGEC
 XENP22843

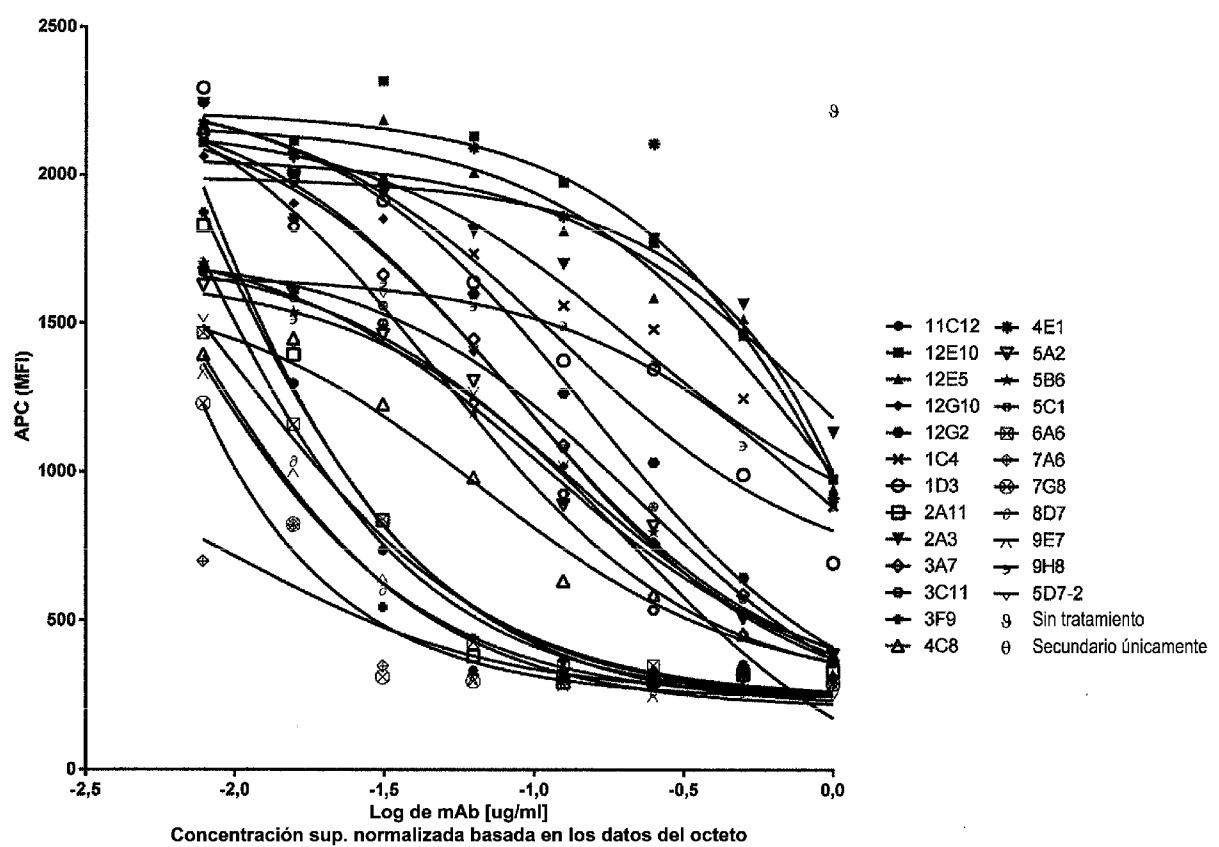
Figura 18

Figura 19

Las Figuras 19A muestran ensayos de liberación de citocinas (A: IL-2, G: IFN γ) después de la estimulación con SEB de PBMC humanas y el tratamiento con un anticuerpo biespecífico anti-PD-1 X anti-CTLA-4.

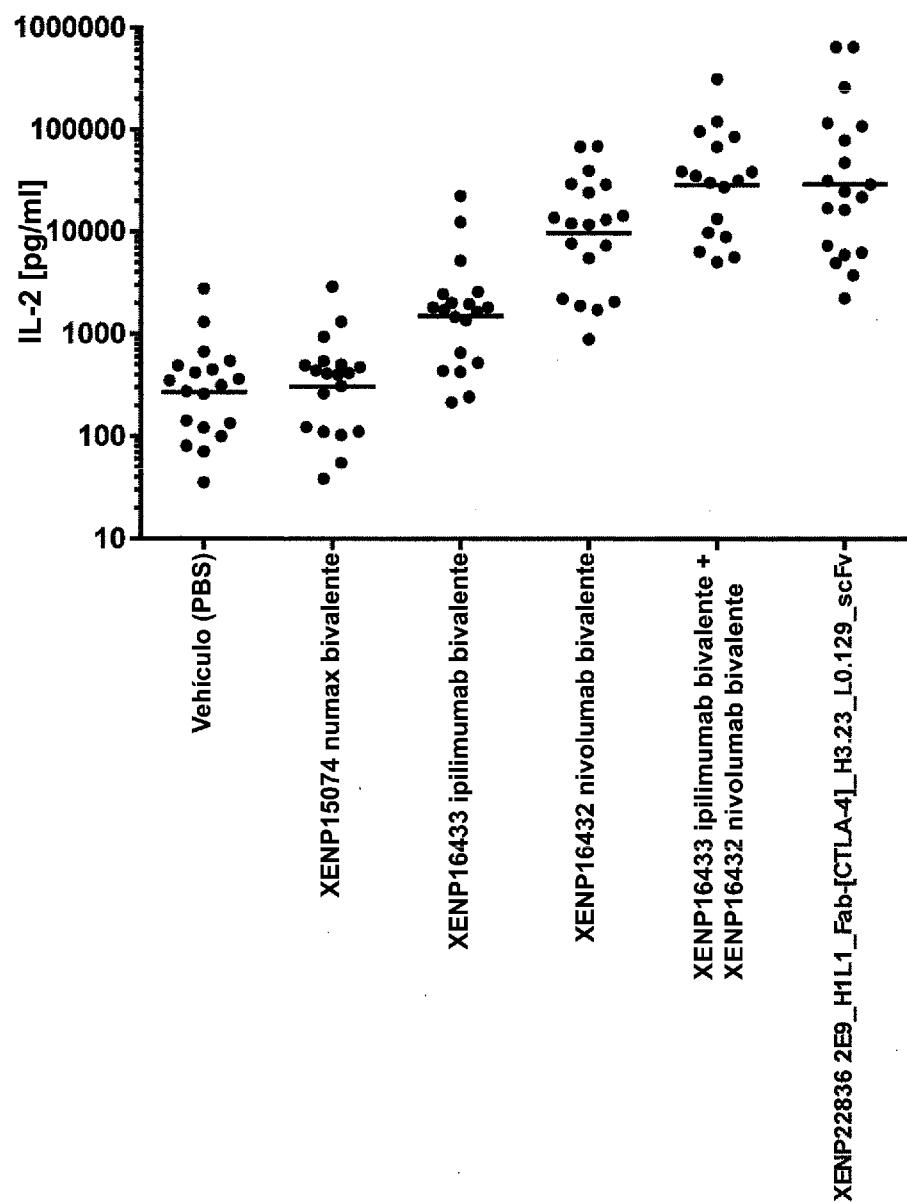
Figura 19A

Figura 19B

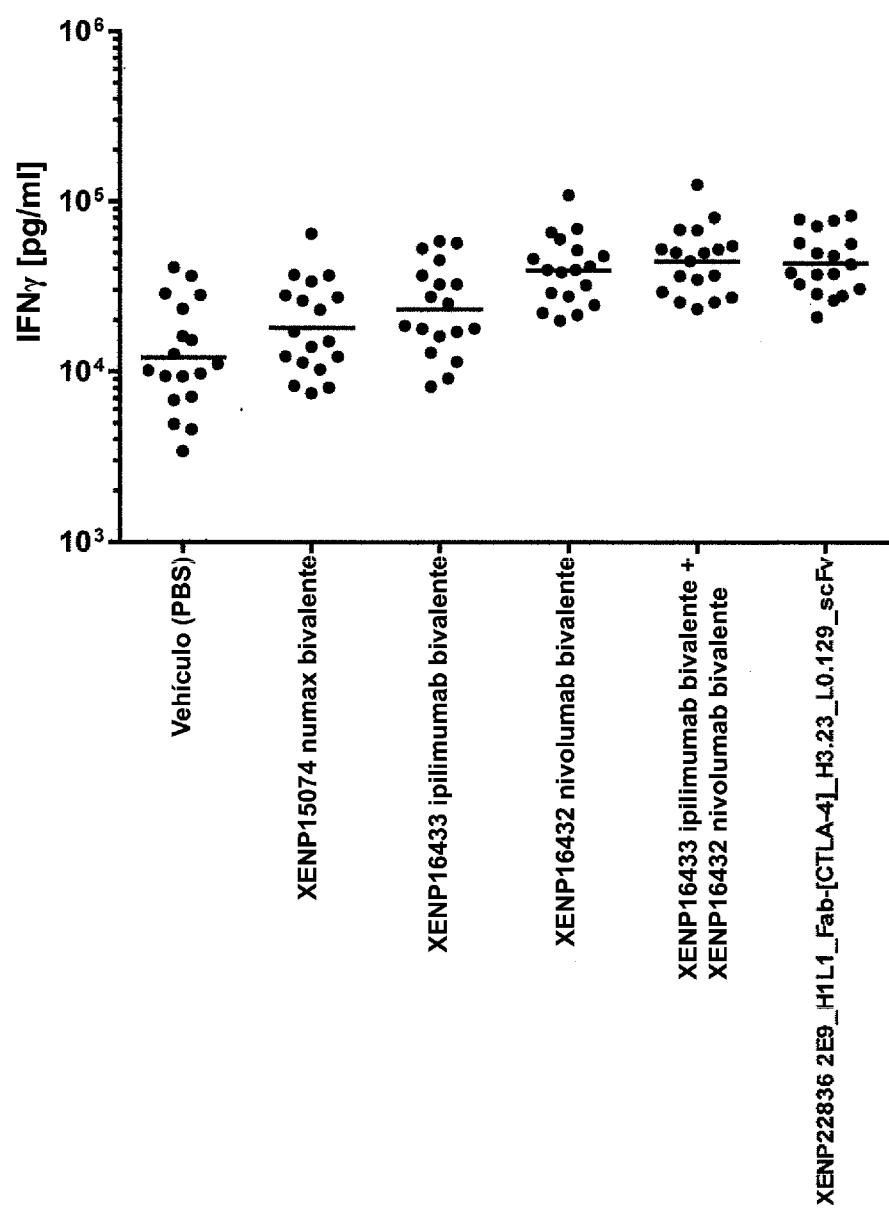


Figura 20

La Figura 20A-C muestra los eventos CD45+, eventos CD4 y eventos CD8+ en el día 14 después de que las PBMC humanas se integraran en ratones NSG en el día 0 seguido de la administración de los artículos de prueba indicados en el día 1.

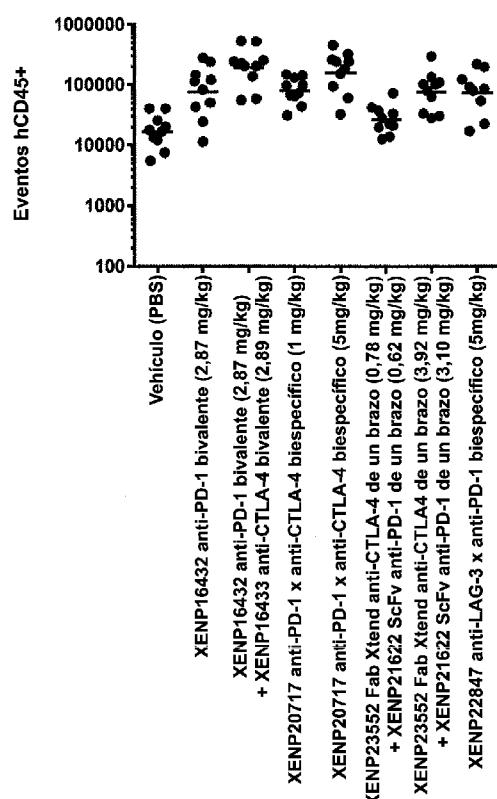
Figura 20A

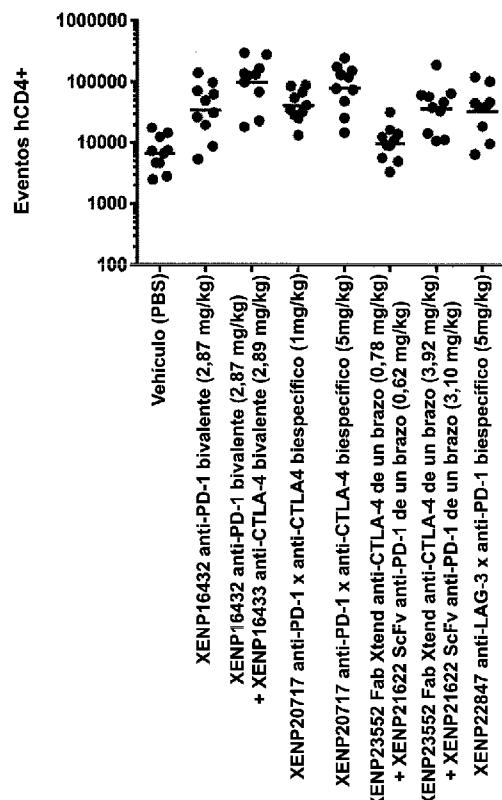
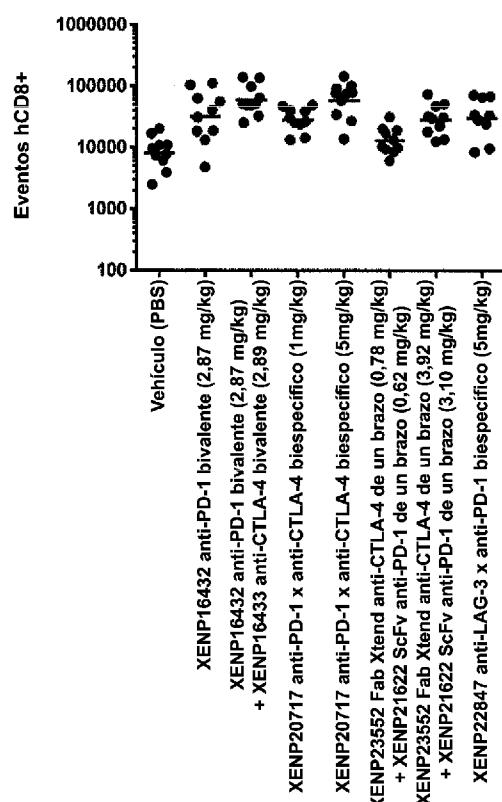
Figura 20B**Figura 20C**

Figura 21A

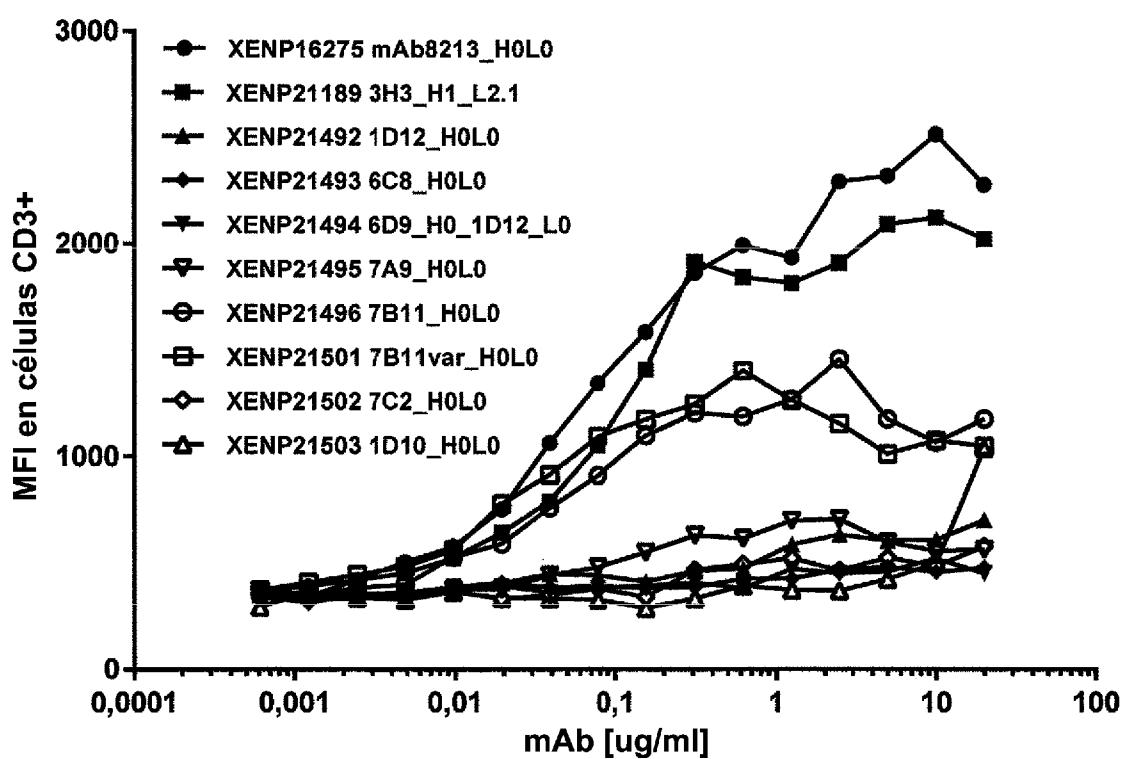
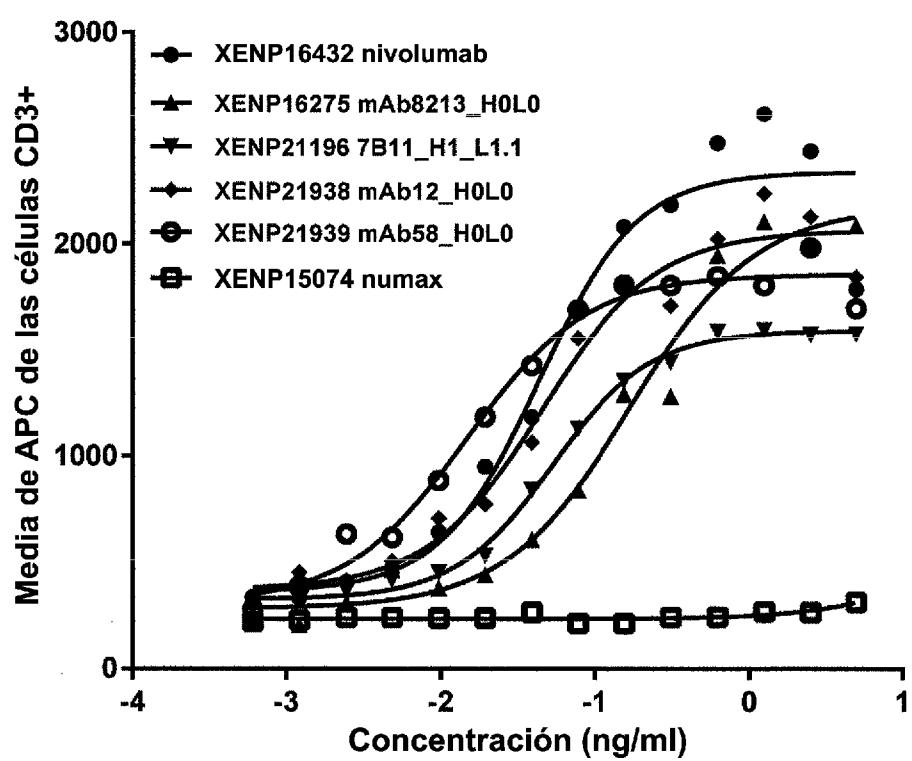


Figura 21B



ES 2 995 596 T3

Figura 22

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	ka (l/ms)	kd (1/s)
Experimento n.º 1						
16275	mAb8213	H0	L0	4,94E-09; 5,93E-09	7,34E04; 8,63E04	3,63E-04; 5,12E-04
17973	ABTIM3	H0	L0	1,74E-09; 2,75E-09	1,45E05; 1,97E05	2,52E-04; 5,42E-04
20850	1D12	H1	L1	9,07E-09	2,45E05	2,22E-03
20851	1D12	H1	L2	2,84E-08	1,72E05	4,87E-03
20853	3H3	H1	L1	4,49E-09	1,04E05	4,66E-04
20854	3H3	H1	L2	7,64E-09	7,07E04	5,40E-04
20855	3H3	H2	L1	5,16E-09	1,97E05	1,02E-03
20856	3H3	H2	L2	1,30E-08	1,11E05	1,44E-03
20857	3H3	H3	L1	7,11E-09	1,04E05	7,39E-04
20858	3H3	H3	L2	1,57E-08	8,16E04	1,28E-03
20859	3H3	H4	L1	4,50E-09	1,53E05	6,88E-04
20860	3H3	H4	L2	8,20E-09	9,15E04	7,50E-04
20861	7B11	H1	L1	1,07E-08	2,86E05	3,06E-03
20862	7B11	H1	L2	1,24E-08	1,37E05	1,70E-03
20863	7B11	H2	L1	9,24E-09	2,77E05	2,56E-03
20864	7B11	H2	L2	1,85E-08	1,34E05	2,48E-03
20865	7C2	H1	L1	5,90E-09	3,01E05	1,78E-03
Experimento n.º 2						
16275	mAb8213	H0	L0	8,37E-10	1,84E05	1,54E-04
21188	3H3	H1	L1.1	5,34E-09	1,38E05	7,35E-04
21189	3H3	H1	L2.1	2,61E-09	1,54E05	4,00E-04
21190	3H3	H2	L1.1	8,61E-09	2,93E05	2,52E-03
21191	3H3	H2	L2.1	6,90E-09	2,52E05	1,74E-03
21192	3H3	H3	L1.1	1,25E-08	1,14E05	1,42E-03
21193	3H3	H3	L2.1	6,32E-09	1,56E05	9,87E-04
21194	3H3	H4	L1.1	4,60E-09	1,80E05	8,26E-04
21195	3H3	H4	L2.1	2,50E-09	1,78E05	4,45E-04
21196	7B11	H1	L1.1	3,11E-08	4,32E05	1,34E-02
21201	7B11	H1	L2.1	3,76E-08	3,87E05	1,45E-02
21202	7B11	H2.1	L1.1	3,25E-08	5,00E05	1,63E-02
21203	7B11	H2.1	L2.1	2,66E-08	4,80E05	1,28E-02
21204	7C2	H1.1	L1.1	9,41E-10	1,56E06	1,47E-03
Experimento n.º 3						
16275	mAb8213	H0	L0	8,50E-11	1,86E05	1,58E-05
21492	1D12	H0	L0	1,07E-07	1,97E05	2,11E-02
21495	7A9	H0	L0	3,06E-08	2,03E05	6,21E-03
21496	7B11	H0	L0	2,24E-08	2,61E05	5,84E-03
21501	7B11var	H0	L0	2,02E-08	2,90E05	5,84E-03
21502	7C2	H0	L0	6,43E-09	2,68E06	1,72E-02

Figura 23A

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
17906	17922	H1	L1	VH-VL	1,49E-07	56,5
18094	18493	H1.1	L1	VH-VL	1,62E-07	56,5
18095	18494	H1.2	L1	VH-VL	1,59E-07	57,0
18096	18495	H1.3	L1	VH-VL	1,86E-07	55,0
18101	18496	H1.4	L1	VH-VL	1,66E-07	56,5
18102	18501	H1.5	L1	VH-VL	1,79E-07	56,0
18103	18502	H1.6	L1	VH-VL	1,43E-07	56,0
18104	18503	H1.7	L1	VH-VL	1,18E-07	56,0
18105	18504	H1.8	L1	VH-VL	1,21E-07	57,0
18106	18505	H1.9	L1	VH-VL	1,91E-07	54,5
18107	18506	H1.10	L1	VH-VL	2,80E-07	
18108	18507	H1.11	L1	VH-VL	1,22E-07	56,5
18109	18508	H1.12	L1	VH-VL	1,48E-07	56,0
18110	18509	H1.13	L1	VH-VL	1,65E-07	55,5
18111	18510	H1.14	L1	VH-VL	1,59E-07	55,5
18112	18511	H1.15	L1	VH-VL	1,30E-07	55,5
18113	18512	H1.16	L1	VH-VL	1,39E-07	55,0
18114	18513	H1.17	L1	VH-VL	5,15E-07	
18115	18514	H1.18	L1	VH-VL	1,20E-07	55,5
18116	18515	H1.19	L1	VH-VL	1,70E-07	56,0
18117	18516	H1.20	L1	VH-VL	1,47E-07	
18118	18517	H1.21	L1	VH-VL	2,04E-07	
18119	18518	H1.22	L1	VH-VL	1,24E-07	55,5
18120	18519	H1.23	L1	VH-VL	1,39E-06	
18121	18520	H1.24	L1	VH-VL	1,84E-07	
18122	18521	H1.25	L1	VH-VL	1,71E-07	
18123	18522	H1.26	L1	VH-VL	1,20E-07	54,5
18124	18523	H1.27	L1	VH-VL	2,02E-07	55,0
18125	18524	H1.28	L1	VH-VL	9,64E-08	56,0
18126	18525	H1.29	L1	VH-VL	1,51E-07	
18127	18526	H1.30	L1	VH-VL	2,01E-07	
18128	18527	H1.31	L1	VH-VL	1,83E-07	
18129	18528	H1.32	L1	VH-VL	2,53E-07	
18130	18529	H1.33	L1	VH-VL	1,87E-07	
18131	18530	H1.34	L1	VH-VL	1,45E-07	
18132	18531	H1.35	L1	VH-VL	2,19E-07	
18133	18532	H1.36	L1	VH-VL	2,18E-07	
18134	18533	H1.37	L1	VH-VL	2,63E-07	
18135	18534	H1.38	L1	VH-VL	2,12E-07	
18136	18535	H1.39	L1	VH-VL	1,90E-07	
18137	18536	H1.40	L1	VH-VL	3,78E-07	
18138	18537	H1.41	L1	VH-VL	1,60E-07	
18139	18538	H1.42	L1	VH-VL	1,74E-07	
18140	18539	H1.43	L1	VH-VL	1,64E-07	

Figura 23B

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18141	18540	H1.44	L1	VH-VL	Débil	55,0
18142	18541	H1.45	L1	VH-VL	1,34E-07	51,0
18143	18542	H1.46	L1	VH-VL	1,10E-07	56,5
18144	18543	H1.47	L1	VH-VL	1,11E-07	
18145	18544	H1.48	L1	VH-VL	9,01E-08	
18146	18545	H1.49	L1	VH-VL	1,33E-07	56,0
18147	18546	H1.50	L1	VH-VL	1,44E-07	56,5
18148	18547	H1.51	L1	VH-VL	1,17E-07	51,0
18149	18548	H1.52	L1	VH-VL	9,92E-08	57,0
18150	18549	H1.53	L1	VH-VL	1,36E-07	55,5
18151	18550	H1.54	L1	VH-VL	1,70E-07	
18152	18551	H1.55	L1	VH-VL	1,31E-07	
18153	18552	H1.56	L1	VH-VL	Débil	
18154	18553	H1.57	L1	VH-VL	3,66E-07	
18155	18554	H1.58	L1	VH-VL	Débil	
18156	18555	H1.59	L1	VH-VL	1,65E-06	
18157	18556	H1.60	L1	VH-VL	1,84E-07	
18158	18557	H1.61	L1	VH-VL	Débil	
18159	18558	H1.62	L1	VH-VL	1,37E-07	
18160	18559	H1.63	L1	VH-VL	1,00E-07	56,0
18161	18560	H1.64	L1	VH-VL	1,75E-07	
18162	18561	H1.65	L1	VH-VL	2,76E-07	
18163	18562	H1.66	L1	VH-VL	2,02E-07	
18164	18563	H1.67	L1	VH-VL	8,12E-07	
18165	18564	H1.68	L1	VH-VL	2,23E-07	
18166	18565	H1.69	L1	VH-VL	1,82E-07	
18167	18566	H1.70	L1	VH-VL	1,97E-07	
18168	18567	H1.71	L1	VH-VL	4,53E-07	
18169	18568	H1.72	L1	VH-VL	4,29E-07	
18170	18569	H1.73	L1	VH-VL	1,79E-07	54,5
18171	18570	H1.74	L1	VH-VL	1,45E-07	55,5
18172	18571	H1.75	L1	VH-VL	1,65E-07	53,0
18173	18572	H1.76	L1	VH-VL	1,41E-07	55,5
18174	18573	H1.77	L1	VH-VL	1,25E-07	54,0
18175	18574	H1.78	L1	VH-VL	1,09E-07	53,5
18176	18575	H1.79	L1	VH-VL	2,52E-07	
18177	18576	H1.80	L1	VH-VL	1,91E-07	
18178	18577	H1.81	L1	VH-VL	2,13E-07	
18179	18578	H1.82	L1	VH-VL	2,40E-07	
18180	18579	H1.83	L1	VH-VL	Débil	
18181	18580	H1.84	L1	VH-VL	1,03E-07	55,5
18182	18581	H1.85	L1	VH-VL	8,62E-08	55,0
18183	18582	H1.86	L1	VH-VL	8,39E-08	55,5
18184	18583	H1.87	L1	VH-VL	9,43E-08	54,0

Figura 23C

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18185	18584	H1.88	L1	VH-VL	8,51E-08	56,0
18186	18585	H1.89	L1	VH-VL	8,09E-08	54,5
18187	18586	H1.90	L1	VH-VL	7,54E-08	55,0
18188	18587	H1.91	L1	VH-VL	1,04E-07	54,5
18189	18588	H1.92	L1	VH-VL	1,07E-07	
18190	18589	H1.93	L1	VH-VL	1,21E-07	
18191	18590	H1.94	L1	VH-VL	8,46E-08	
18192	18591	H1.95	L1	VH-VL	9,15E-08	
18193	18592	H1.96	L1	VH-VL	6,42E-08	
18194	18593	H1.97	L1	VH-VL	8,23E-08	
18195	18594	H1.98	L1	VH-VL	2,41E-07	56,0
18196	18595	H1.99	L1	VH-VL	2,10E-07	56,5
18201	18596	H1.100	L1	VH-VL	2,51E-07	55,0
18202	18601	H1.101	L1	VH-VL	2,32E-07	58,0
18203	18602	H1.102	L1	VH-VL	2,15E-07	56,0
18204	18603	H1.103	L1	VH-VL	2,89E-07	
18205	18604	H1.104	L1	VH-VL	1,98E-07	56,0
18206	18605	H1.105	L1	VH-VL	2,57E-07	53,5
18207	18606	H1.106	L1	VH-VL	1,85E-07	54,5
18208	18607	H1.107	L1	VH-VL	2,33E-07	55,5
18209	18608	H1.108	L1	VH-VL	2,07E-07	55,0
18210	18609	H1.109	L1	VH-VL	2,38E-07	54,5
18211	18610	H1.110	L1	VH-VL	1,78E-07	56,0
18212	18611	H1.111	L1	VH-VL	1,56E-07	55,5
18213	18612	H1.112	L1	VH-VL	1,60E-07	55,0
18214	18613	H1.113	L1	VH-VL	1,65E-07	55,0
18215	18614	H1.114	L1	VH-VL	2,79E-07	55,0
18216	18615	H1.115	L1	VH-VL	1,93E-07	55,0
18217	18616	H1.116	L1	VH-VL	1,80E-07	54,0
18218	18617	H1.117	L1	VH-VL	1,80E-07	56,0
18219	18618	H1.118	L1	VH-VL	2,51E-07	55,0
18220	18619	H1.119	L1	VH-VL	1,57E-07	55,5
18221	18620	H1.120	L1	VH-VL	1,64E-07	54,0
18222	18621	H1.121	L1	VH-VL	1,53E-07	53,5
18223	18622	H1.122	L1	VH-VL	1,67E-07	54,5
18224	18623	H1.123	L1	VH-VL	1,71E-07	52,5
18225	18624	H1.124	L1	VH-VL	1,51E-07	53,0
18226	18625	H1.125	L1	VH-VL	1,88E-07	53,0
18227	18626	H1.126	L1	VH-VL	1,45E-07	53,5
18228	18627	H1.127	L1	VH-VL	1,60E-07	52,5
18229	18628	H1.128	L1	VH-VL	1,51E-07	55,0
18230	18629	H1.129	L1	VH-VL	1,81E-07	
18231	18630	H1.130	L1	VH-VL	1,41E-07	56,0
18232	18631	H1.131	L1	VH-VL	1,34E-07	55,5

Figura 23D

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18233	18632	H1.132	L1	VH-VL	1,92E-07	
18234	18633	H1.133	L1	VH-VL	1,97E-07	55,5
18235	18634	H1.134	L1	VH-VL	2,20E-07	
18236	18635	H1.135	L1	VH-VL	1,53E-07	54,5
18237	18636	H1.136	L1	VH-VL	2,00E-07	
18238	18637	H1.137	L1	VH-VL	1,16E-07	57,0
18239	18638	H1.138	L1	VH-VL	1,42E-07	55,5
18240	18639	H1.139	L1	VH-VL	1,62E-07	56,5
18241	18640	H1.140	L1	VH-VL	1,18E-07	57,0
18242	18641	H1.141	L1	VH-VL	1,53E-07	55,5
18243	18642	H1.142	L1	VH-VL	1,70E-07	56,5
18244	18643	H1.143	L1	VH-VL	1,34E-07	
18245	18644	H1.144	L1	VH-VL	1,50E-07	55,0
18246	18645	H1.145	L1	VH-VL	1,42E-07	57,0
18247	18646	H1.146	L1	VH-VL	1,44E-07	54,0
18248	18647	H1.147	L1	VH-VL	1,28E-07	55,0
18249	18648	H1.148	L1	VH-VL	1,32E-07	56,0
18250	18649	H1.149	L1	VH-VL	1,27E-07	54,5
18251	18650	H1.150	L1	VH-VL	1,23E-07	55,5
18252	18651	H1.151	L1	VH-VL	1,12E-07	57,0
18253	18652	H1.152	L1	VH-VL	8,58E-08	56,5
18254	18653	H1.153	L1	VH-VL	1,66E-07	55,5
18255	18654	H1.154	L1	VH-VL	1,37E-07	56,5
18256	18655	H1.155	L1	VH-VL	9,70E-08	56,5
18257	18656	H1.156	L1	VH-VL	2,80E-07	
18258	18657	H1.157	L1	VH-VL	1,51E-07	57,0
18259	18658	H1.158	L1	VH-VL	1,32E-07	56,5
18260	18659	H1.159	L1	VH-VL	1,39E-07	56,0
18261	18660	H1.160	L1	VH-VL	1,28E-07	57,0
18262	18661	H1.161	L1	VH-VL	1,53E-07	56,5
18263	18662	H1.162	L1	VH-VL	2,78E-07	
18264	18663	H1.163	L1	VH-VL	1,07E-07	55,5
18265	18664	H1.164	L1	VH-VL	2,16E-07	
18266	18665	H1.165	L1	VH-VL	Débil	
18267	18666	H1.166	L1	VH-VL	2,43E-07	
18268	18667	H1.167	L1	VH-VL	Débil	
18269	18668	H1.168	L1	VH-VL	Débil	
18270	18669	H1.169	L1	VH-VL	7,90E-06	
18271	18670	H1.170	L1	VH-VL	Débil	
18272	18671	H1.171	L1	VH-VL	Débil	
18273	18672	H1.172	L1	VH-VL	Débil	
18274	18673	H1.173	L1	VH-VL	Débil	
18275	18674	H1.174	L1	VH-VL	Débil	
18276	18675	H1.175	L1	VH-VL	Débil	

Figura 23E

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18277	18676	H1.176	L1	VH-VL	1,32E-07	56,0
18278	18677	H1.177	L1	VH-VL	Débil	
18279	18678	H1.178	L1	VH-VL	Débil	
18280	18679	H1.179	L1	VH-VL	3,40E-07	
18281	18680	H1.180	L1	VH-VL	Débil	
18282	18681	H1.181	L1	VH-VL	Débil	
18283	18682	H1.182	L1	VH-VL	Débil	
18284	18683	H1.183	L1	VH-VL	Débil	
18285	18684	H1.184	L1	VH-VL	Débil	
18286	18685	H1.185	L1	VH-VL	Débil	
18287	18686	H1.186	L1	VH-VL	Débil	
18288	18687	H1.187	L1	VH-VL	Débil	
18289	18688	H1.188	L1	VH-VL	1,61E-07	56,5
18290	18689	H1.189	L1	VH-VL	Débil	
18291	18690	H1.190	L1	VH-VL	Débil	
18292	18691	H1.191	L1	VH-VL	Débil	
18293	18692	H1.192	L1	VH-VL	Débil	
18294	18693	H1.193	L1	VH-VL	Débil	
18295	18694	H1.194	L1	VH-VL	Débil	
18296	18695	H1.195	L1	VH-VL	5,81E-07	
18301	18696	H1.196	L1	VH-VL	Débil	
18302	18701	H1.197	L1	VH-VL	6,15E-07	
18303	18702	H1.198	L1	VH-VL	Débil	
18304	18703	H1.199	L1	VH-VL	Débil	
18305	18704	H1.200	L1	VH-VL	1,77E-07	
18306	18705	H1.201	L1	VH-VL	Débil	
18307	18706	H1.202	L1	VH-VL	Débil	
18308	18707	H1.203	L1	VH-VL	3,95E-07	
18309	18708	H1.204	L1	VH-VL	Débil	
18310	18709	H1.205	L1	VH-VL	Débil	
18311	18710	H1.206	L1	VH-VL	Débil	
18312	18711	H1.207	L1	VH-VL	Débil	
18313	18712	H1.208	L1	VH-VL	Débil	
18314	18713	H1.209	L1	VH-VL	Débil	
18315	18714	H1.210	L1	VH-VL	Débil	
18316	18715	H1.211	L1	VH-VL	1,40E-07	58,5
18317	18716	H1.212	L1	VH-VL	1,24E-07	
18318	18717	H1.213	L1	VH-VL	Débil	
18319	18718	H1.214	L1	VH-VL	Débil	
18320	18719	H1.215	L1	VH-VL	Débil	
18321	18720	H1.216	L1	VH-VL	Débil	
18322	18721	H1.217	L1	VH-VL	Débil	
18323	18722	H1.218	L1	VH-VL	Débil	
18324	18723	H1.219	L1	VH-VL	Débil	

Figura 23F

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18325	18724	H1.220	L1	VH-VL	Débil	
18326	18725	H1.221	L1	VH-VL	Débil	
18327	18726	H1.222	L1	VH-VL	Débil	
18328	18727	H1.223	L1	VH-VL	Débil	
18329	18728	H1.224	L1	VH-VL	Débil	
18330	18729	H1.225	L1	VH-VL	Débil	
18331	18730	H1.226	L1	VH-VL	Débil	
18332	18731	H1.227	L1	VH-VL	Débil	
18333	18732	H1.228	L1	VH-VL	Débil	
18334	18733	H1.229	L1	VH-VL	Débil	
18335	18734	H1.230	L1	VH-VL	Débil	
18336	18735	H1.231	L1	VH-VL	Débil	
18337	18736	H1.232	L1	VH-VL	Débil	
18338	18737	H1.233	L1	VH-VL	Débil	
18339	18738	H1.234	L1	VH-VL	Débil	
18340	18739	H1.235	L1	VH-VL	Débil	
18341	18740	H1.236	L1	VH-VL	Débil	
18342	18741	H1.237	L1	VH-VL	1,95E-07	
18343	18742	H1.238	L1	VH-VL	1,16E-07	57,0
18344	18743	H1	L1.1	VH-VL	1,11E-07	56,5
18345	18744	H1	L1.2	VH-VL	1,20E-07	54,5
18346	18745	H1	L1.3	VH-VL	1,07E-07	55,0
18347	18746	H1	L1.4	VH-VL	8,73E-08	57,0
18348	18747	H1	L1.5	VH-VL	1,02E-07	56,5
18349	18748	H1	L1.6	VH-VL	1,12E-07	57,0
18350	18749	H1	L1.7	VH-VL	1,40E-07	55,5
18351	18750	H1	L1.8	VH-VL	1,40E-07	56,0
18352	18751	H1	L1.9	VH-VL	1,24E-07	57,0
18353	18752	H1	L1.10	VH-VL	1,44E-07	54,5
18354	18753	H1	L1.11	VH-VL	1,46E-07	56,0
18355	18754	H1	L1.12	VH-VL	1,39E-07	58,0
18356	18755	H1	L1.13	VH-VL	1,46E-07	
18357	18756	H1	L1.14	VH-VL	9,95E-08	57,5
18358	18757	H1	L1.15	VH-VL	1,21E-07	56,5
18359	18758	H1	L1.16	VH-VL	2,86E-07	
18360	18759	H1	L1.17	VH-VL	1,13E-07	54,5
18361	18760	H1	L1.18	VH-VL	2,71E-07	
18362	18761	H1	L1.19	VH-VL	2,84E-07	
18363	18762	H1	L1.20	VH-VL	1,75E-07	
18364	18763	H1	L1.21	VH-VL	1,22E-07	58,0
18365	18764	H1	L1.22	VH-VL	3,33E-07	
18366	18765	H1	L1.23	VH-VL	8,20E-08	59,0
18367	18766	H1	L1.24	VH-VL	4,46E-07	
18368	18767	H1	L1.25	VH-VL	4,09E-07	

Figura 23G

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18369	18768	H1	L1.26	VH-VL	Débil	
18370	18769	H1	L1.27	VH-VL	3,73E-07	
18371	18770	H1	L1.28	VH-VL	1,22E-07	
18372	18771	H1	L1.29	VH-VL	Débil	
18373	18772	H1	L1.30	VH-VL	Débil	
18374	18773	H1	L1.31	VH-VL	Débil	
18375	18774	H1	L1.32	VH-VL	7,36E-07	
18376	18775	H1	L1.33	VH-VL	Débil	
18377	18776	H1	L1.34	VH-VL	1,45E-06	
18378	18777	H1	L1.35	VH-VL	4,28E-07	
18379	18778	H1	L1.36	VH-VL	Débil	
18380	18779	H1	L1.37	VH-VL	Débil	
18381	18780	H1	L1.38	VH-VL	Débil	
18382	18781	H1	L1.39	VH-VL	5,45E-07	
18383	18782	H1	L1.40	VH-VL	Débil	
18384	18783	H1	L1.41	VH-VL	Débil	
18385	18784	H1	L1.42	VH-VL	Débil	
18386	18785	H1	L1.43	VH-VL	Débil	
18387	18786	H1	L1.44	VH-VL	Débil	
18388	18787	H1	L1.45	VH-VL	Débil	
18389	18788	H1	L1.46	VH-VL	2,19E-07	
18390	18789	H1	L1.47	VH-VL	1,06E-07	55,0
18391	18790	H1	L1.48	VH-VL	1,35E-07	
18392	18791	H1	L1.49	VH-VL	1,49E-07	
18393	18792	H1	L1.50	VH-VL	1,17E-07	57,0
18394	18793	H1	L1.51	VH-VL	1,09E-07	55,5
18395	18794	H1	L1.52	VH-VL	9,28E-08	54,0
18396	18795	H1	L1.53	VH-VL	1,46E-07	
18401	18796	H1	L1.54	VH-VL	4,49E-07	
18402	18801	H1	L1.55	VH-VL	Débil	
18403	18802	H1	L1.56	VH-VL	Débil	
18404	18803	H1	L1.57	VH-VL	Débil	
18405	18804	H1	L1.58	VH-VL	Débil	
18406	18805	H1	L1.59	VH-VL	Débil	
18407	18806	H1	L1.60	VH-VL	Débil	
18408	18807	H1	L1.61	VH-VL	Débil	
18409	18808	H1	L1.62	VH-VL	Débil	
18410	18809	H1	L1.63	VH-VL	Débil	
18411	18810	H1	L1.64	VH-VL	1,79E-07	
18412	18811	H1	L1.65	VH-VL	2,91E-07	
18413	18812	H1	L1.66	VH-VL	3,29E-07	
18414	18813	H1	L1.67	VH-VL	1,46E-07	54,0
18415	18814	H1	L1.68	VH-VL	1,60E-07	
18416	18815	H1	L1.69	VH-VL	Débil	

Figura 23H

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18417	18816	H1	L1.70	VH-VL	1,34E-07	
18418	18817	H1	L1.71	VH-VL	3,71E-07	
18419	18818	H1	L1.72	VH-VL	6,40E-07	
18420	18819	H1	L1.73	VH-VL	1,52E-07	
18421	18820	H1	L1.74	VH-VL	1,75E-07	
18422	18821	H1	L1.75	VH-VL	1,78E-07	
18423	18822	H1	L1.76	VH-VL	1,33E-07	56,5
18424	18823	H1	L1.77	VH-VL	3,78E-07	
18425	18824	H1	L1.78	VH-VL	Débil	
18426	18825	H1	L1.79	VH-VL	Débil	
18427	18826	H1	L1.80	VH-VL	Débil	
18428	18827	H1	L1.81	VH-VL	2,54E-07	
18429	18828	H1	L1.82	VH-VL	7,67E-08	
18430	18829	H1	L1.83	VH-VL	1,07E-05	
18431	18830	H1	L1.84	VH-VL	5,39E-07	
18432	18831	H1	L1.85	VH-VL	1,56E-07	
18433	18832	H1	L1.86	VH-VL	1,24E-07	55,5
18434	18833	H1	L1.87	VH-VL	2,51E-07	
18435	18834	H1	L1.88	VH-VL	1,40E-07	56,0
18436	18835	H1	L1.89	VH-VL	6,50E-07	
18437	18836	H1	L1.90	VH-VL	1,22E-06	
18438	18837	H1	L1.91	VH-VL	1,79E-07	
18439	18838	H1	L1.92	VH-VL	4,04E-07	
18440	18839	H1	L1.93	VH-VL	7,76E-07	
18441	18840	H1	L1.94	VH-VL	8,48E-08	53,0
18442	18841	H1	L1.95	VH-VL	1,23E-07	54,5
18443	18842	H1	L1.96	VH-VL	1,30E-07	55,5
18444	18843	H1	L1.97	VH-VL	1,06E-07	56,5
18445	18844	H1	L1.98	VH-VL	1,84E-07	
18446	18845	H1	L1.99	VH-VL	1,48E-06	
18447	18846	H1	L1.100	VH-VL	9,17E-08	55,5
18448	18847	H1	L1.101	VH-VL	1,35E-07	
18449	18848	H1	L1.102	VH-VL	1,06E-07	55,0
18450	18849	H1	L1.103	VH-VL	9,46E-08	60,0
18451	18850	H1	L1.104	VH-VL	1,08E-07	57,0
18452	18851	H1	L1.105	VH-VL	1,02E-07	55,0
18453	18852	H1	L1.106	VH-VL	1,01E-07	57,5
18454	18853	H1	L1.107	VH-VL	Débil	
18455	18854	H1	L1.108	VH-VL	Débil	
18456	18855	H1	L1.109	VH-VL	Débil	
18457	18856	H1	L1.110	VH-VL	Débil	
18458	18857	H1	L1.111	VH-VL	Débil	
18459	18858	H1	L1.112	VH-VL	1,92E-07	
18460	18859	H1	L1.113	VH-VL	Débil	

Figura 23I

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
18461	18860	H1	L1.114	VH-VL	2,87E-07	
18462	18861	H1	L1.115	VH-VL	Débil	
18463	18862	H1	L1.116	VH-VL	5,60E-08	55,5
18464	18863	H1	L1.117	VH-VL	1,58E-07	58,0
18465	18864	H1	L1.118	VH-VL	7,90E-08	51,00, 58,00
18466	18865	H1	L1.119	VH-VL	4,88E-08	54,0
18467	18866	H1	L1.120	VH-VL	7,74E-08	50,50, 57,00
18468	18867	H1	L1.121	VH-VL	1,08E-07	54,5
18469	18868	H1	L1.122	VH-VL	9,36E-08	51,0
18470	18869	H1	L1.123	VH-VL	1,32E-07	49,00, 59,00
18471	18870	H1	L1.124	VH-VL	8,70E-08	53,5
18472	18871	H1	L1.125	VH-VL	1,06E-07	53,0
18473	18872	H1	L1.126	VH-VL	7,34E-08	51,0
18474	18873	H1	L1.127	VH-VL	1,10E-07	55,5
18475	18874	H1	L1.128	VH-VL	1,07E-07	57,0
18476	18875	H1	L1.129	VH-VL	1,00E-07	57,0
18477	18876	H1	L1.130	VH-VL	1,18E-07	54,5
18478	18877	H1	L1.131	VH-VL	1,96E-07	55,5
18479	18878	H1	L1.132	VH-VL	1,51E-07	55,0
18480	18879	H1	L1.133	VH-VL	1,32E-07	54,0
18481	18880	H1	L1.134	VH-VL	1,97E-07	57,0
18482	18881	H1	L1.135	VH-VL	1,56E-07	54,5
18483	18882	H1	L1.136	VH-VL	2,41E-07	56,5
18484	18883	H1	L1.137	VH-VL	1,87E-07	56,0
18485	18884	H1	L1.138	VH-VL	2,05E-07	56,0
18486	18885	H1	L1.139	VH-VL	1,76E-07	54,0
18487	18886	H1	L1.140	VH-VL	2,52E-07	
18488	18887	H1	L1.141	VH-VL	2,05E-07	57,0
18489	18888	H1	L1.142	VH-VL	1,09E-07	54,0
18490	18889	H1	L1.143	VH-VL	2,36E-07	
18491	18890	H1	L1.144	VH-VL	1,83E-07	57,0
18492	18891	H1	L1.145	VH-VL	1,63E-07	54,0
18892	18895	H0	L0	VH-VL	1,24E-07	62,0
N/A	18896 (rvs scFv)	H1	L1	VL-VH		58,5
N/A	18921	H1	L3	VH-VL		55,0
N/A	18922	H1	L4	VH-VL		57,0
N/A	18923	H1	L5	VH-VL		60,0
N/A	18924	H2	L1	VH-VL		
N/A	18925	H2	L2	VH-VL		
N/A	18926	H2	L3	VH-VL		
N/A	18927	H2	L4	VH-VL		
N/A	18928	H2	L5	VH-VL		
N/A	18929	H3	L1	VH-VL		
N/A	18930	H3	L2	VH-VL		

Figura 23J

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
N/A	18931	H3	L3	VH-VL		
N/A	18932	H3	L4	VH-VL		
N/A	18933	H3	L5	VH-VL		
N/A	18934	H4	L1	VH-VL		
N/A	18935	H4	L2	VH-VL		
N/A	18936	H4	L3	VH-VL		
N/A	18937	H4	L4	VH-VL		
N/A	18938	H4	L5	VH-VL		
18910	N/A	H1.90	L1.119	VH-VL	1,254E-08	
18911	N/A	H1.90	L1.23	VH-VL	2,278E-08	
18912	N/A	H1.90	L1.67	VH-VL	3,224E-08	
18913	N/A	H1.90	L1.94	VH-VL	2,27E-08	
18914	N/A	H1.90	L1.116	VH-VL	1,634E-08	
18915	N/A	H1.155	L1.119	VH-VL	1,971E-08	
18980	19064	H1.239	L1	VH-VL		56,5
18981	19065	H1.240	L1	VH-VL		56,5
18982	19066	H1.241	L1	VH-VL		57,0
18983	19067	H1.242	L1	VH-VL		56,5
18984	19068	H1.243	L1	VH-VL		55,0
18985	19069	H1.244	L1	VH-VL		55,5
18986	19070	H1.245	L1	VH-VL		56,0
18987	19071	H1.246	L1	VH-VL		54,0
18988	19072	H1.247	L1	VH-VL		56,5
18989	19073	H1.248	L1	VH-VL		55,0
18990	19074	H1.249	L1	VH-VL		54,0
18991	19075	H1.250	L1	VH-VL		56,0
18992	19076	H1.251	L1	VH-VL	6,054E-08	57,0
18993	19077	H1.252	L1	VH-VL		56,5
18994	19078	H1.253	L1	VH-VL		55,0
18995	19079	H1.254	L1	VH-VL		56,5
18996	19080	H1.255	L1	VH-VL		
19001	19081	H1.256	L1	VH-VL		56,0
19002	19082	H1.257	L1	VH-VL	5,607E-08	58,0
19003	19083	H1.258	L1	VH-VL		56,0
19004	19084	H1.259	L1	VH-VL		
19005	19085	H1.260	L1	VH-VL		
19006	19086	H1.261	L1	VH-VL	7,064E-08	57,0
19007	19087	H1.262	L1	VH-VL	6,263E-08	57,0
19008	19088	H1.263	L1	VH-VL		50,0
19009	19089	H1.264	L1	VH-VL		52,0
19010	19090	H1.265	L1	VH-VL		56,0
19011	19091	H1.266	L1	VH-VL		55,0
19012	19092	H1.267	L1	VH-VL		
19013	19093	H1.268	L1	VH-VL		56,5

Figura 23K

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
19014	19094	H1.269	L1	VH-VL		54,5
19015	19095	H1.270	L1	VH-VL		52,0
19016	19096	H1.271	L1	VH-VL	2,267E-08	55,5
19017	19101	H1.272	L1	VH-VL		55,5
19018	19102	H1.273	L1	VH-VL		52,0
19019	19103	H1.274	L1	VH-VL		56,5
19020	19104	H1.275	L1	VH-VL		50,0
19021	19105	H1.276	L1	VH-VL		
19022	19106	H1.277	L1	VH-VL		58,0
19023	19107	H1	L1.146	VH-VL	6,46E-08	57,0
19024	19108	H1	L1.147	VH-VL		54,5
19025	19109	H1	L1.148	VH-VL	6,665E-08	58,0
19026	19110	H1	L1.149	VH-VL		55,5
19027	19111	H1	L1.150	VH-VL	7,238E-08	57,5
19028	19112	H1	L1.151	VH-VL		
19029	19113	H1	L1.152	VH-VL		56,0
19030	19114	H1	L1.153	VH-VL		55,0
19031	19115	H1	L1.154	VH-VL		54,5
19032	19116	H1	L1.155	VH-VL		55,5
19033	19117	H1	L1.156	VH-VL		56,5
19034	19118	H1	L1.157	VH-VL		56,0
19035	19119	H1	L1.158	VH-VL	9,671E-08	58,0
19036	19120	H1	L1.159	VH-VL		52,0
19037	19121	H1	L1.160	VH-VL		
19038	19122	H1	L1.161	VH-VL		47,5
19039	19123	H1	L1.162	VH-VL		
19040	19124	H1	L1.163	VH-VL		55,5
19041	19125	H1	L1.164	VH-VL		56,0
19042	19126	H1	L1.165	VH-VL		58,5
19043	19127	H1	L1.166	VH-VL		49,0
19044	19128	H1	L1.167	VH-VL		53,0
19045	19129	H1	L1.168	VH-VL		54,0
19046	19130	H1	L1.169	VH-VL		67,0
19047	19131	H1	L1.170	VH-VL		65,5
19048	19132	H1	L1.171	VH-VL		51,5
19049	19133	H1	L1.172	VH-VL		53,0
19050	19134	H1	L1.173	VH-VL		54,5
19051	19135	H1	L1.174	VH-VL		53,5
19052	19136	H1	L1.175	VH-VL		54,0
19053	19137	H1	L1.176	VH-VL		54,0
19054	19138	H1	L1.177	VH-VL		56,0
19055	19139	H1	L1.178	VH-VL		
19056	19140	H1	L1.179	VH-VL		52,5
19057	19141	H1	L1.180	VH-VL		

Figura 23L

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
19058	19142	H1	L1.181	VH-VL		
19059	19143	H1	L1.182	VH-VL		52,0
19060	19144	H1	L1.183	VH-VL		53,5
19061	19145	H1	L1.184	VH-VL		
19062	19146	H1	L1.185	VH-VL		55,5
19063	19147	H1	L1.186	VH-VL		54,0
N/A	19148	H1.257	L1.152	VH-VL		57,5
N/A	19149	H1.257	L1.151	VH-VL		55,5
N/A	19150	H1.139	L1.134	VH-VL		57,5
N/A	19151	H1.48	L1.187	VH-VL		53,5
N/A	19152	H1.48	L1.151	VH-VL		52,5
N/A	19153	H1.43	L1.159	VH-VL		50,0
N/A	19154	H1.90	L1.119	VH-VL		53,0
N/A	19155	H1.90	L1.23	VH-VL		57,5
N/A	19156	H1.90	L1.67	VH-VL		53,0
N/A	19157	H1.90	L1.94	VH-VL		52,0
N/A	19158	H1.90	L1.116	VH-VL		54,5
N/A	19159	H1.155	L1.119	VH-VL		54,5
19160	N/A	H1.269	L1.116	VH-VL		
19161	N/A	H1.271	L1.116	VH-VL	1,233E-08	
19162	N/A	H1.272	L1.116	VH-VL		
19163	N/A	H1.90	L1.177	VH-VL		
19164	N/A	H1.269	L1.177	VH-VL		
19165	N/A	H1.271	L1.177	VH-VL	4,682E-09	
19166	N/A	H1.272	L1.177	VH-VL	6,386E-09	
19167	N/A	H1.90	L1.175	VH-VL		
19168	N/A	H1.269	L1.175	VH-VL		
19169	N/A	H1.271	L1.175	VH-VL		
19170	N/A	H1.272	L1.175	VH-VL		
19172	19182	H1	L1.190	VH-VL	2,577E-08	58,5
19173	19183	H1	L1.191	VH-VL		57,0
19174	N/A	H1.90	L1.190	VH-VL	1,103E-08	
19175	N/A	H1.90	L1.191	VH-VL		
19176	N/A	H1.269	L1.190	VH-VL		
19177	N/A	H1.271	L1.190	VH-VL	8,287E-09	
19178	N/A	H1.272	L1.190	VH-VL	7,09E-09	
19179	N/A	H1.269	L1.191	VH-VL		
19180	N/A	H1.271	L1.191	VH-VL		
19181	N/A	H1.272	L1.191	VH-VL		
19193	19203	H1	L1.188	VH-VL	2,596E-08	
19194	19204	H1	L1.189	VH-VL	1,366E-08	64,0
19195	19205	H1.278	L1.188	VH-VL	6,689E-09	66,0
19196	19206	H1.278	L1.189	VH-VL	4,683E-09	67,5
19201	19202	H1.278	L1	VH-VL	1,861E-08	60,0

Figura 23M

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
N/A	19207	H1.278	L1.188	VH-VL		68,0
N/A	19208	H1.278	L1.189	VH-VL		69,5
19589	19618	H1.279	L1.189	VH-VL	1,254E-08	68,5
19590	19619	H1.280	L1.189	VH-VL	5,393E-09	69,0
19591	19620	H1.281	L1.189	VH-VL		68,0
19592	19621	H1.282	L1.189	VH-VL	1,291E-08	68,5
19593	19622	H1.283	L1.189	VH-VL	7,859E-09	69,0
19594	19623	H1.284	L1.189	VH-VL		70,5
19595	19624	H1.285	L1.189	VH-VL		70,0
19596	19625	H1.286	L1.189	VH-VL	1,41E-08	69,5
19601	19626	H1.278	L1.192	VH-VL	6,268E-09	67,5
19602	19627	H1.278	L1.193	VH-VL	1,37E-08	69,5
19603	19628	H1.278	L1.194	VH-VL	7,5E-09	69,0
19604	19629	H1.278	L1.195	VH-VL		69,5
19605	19630	H1.278	L1.196	VH-VL	4,443E-08	71,0
19606	19631	H1.278	L1.197	VH-VL	2,079E-08	69,5
19607	19632	H1.278	L1.198	VH-VL		67,5
19608	19633	H1.278	L1.199	VH-VL		67,5
19609	19634	H1.278	L1.200	VH-VL		67,5
19610	19635	H1.278	L1.201	VH-VL		67,5
19611	19636	H1.278	L1.202	VH-VL		67,5
19612	19637	H1.278	L1.203	VH-VL		67,5
19613	19638	H1.278	L1.204	VH-VL		67,0
19614	19639	H1.278	L1.205	VH-VL	1,266E-08	68,0
19615	19640	H1.278	L1.206	VH-VL		69,0
19616	19641	H1.278	L1.207	VH-VL		68,5
19617	19642	H1.278	L1.208	VH-VL		68,5
N/A	19643	H1.279	L1.189	VL-VH		71,5
N/A	19644	H1.280	L1.189	VL-VH		70,5
N/A	19645	H1.281	L1.189	VL-VH		69,5
N/A	19646	H1.282	L1.189	VL-VH		70,0
N/A	19647	H1.283	L1.189	VL-VH		70,5
N/A	19648	H1.284	L1.189	VL-VH		70,5
N/A	19649	H1.285	L1.189	VL-VH		71,5
N/A	19650	H1.278	L1.192	VL-VH		69,0
N/A	19651	H1.278	L1.193	VL-VH		71,5
N/A	19652	H1.278	L1.194	VL-VH		71,5
N/A	19653	H1.278	L1.195	VL-VH		71,5
N/A	19654	H1.278	L1.196	VL-VH		64,0
N/A	19655	H1.278	L1.197	VL-VH		72,0
N/A	19664	H1.287	L1.209	VH-VL		70,5
N/A	19665	H1.287	L1.209	VL-VH		72,0
N/A	19666	H1.284	L1.194	VH-VL		70,5
N/A	19667	H1.284	L1.194	VL-VH		72,5

Figura 23N

mAb XENP de longitud completa	scFv XENP	VH	VL	Orientación scFv	mAb K _D (M) de PD-1 humano	scFv T _m (°C)
N/A	19668	H1.288	L1.210	VH-VL		72,5
N/A	19669	H1.288	L1.210	VL-VH		72,0
19678	N/A	H1.279	L1.192	VH-VL		
19679	N/A	H1.280	L1.192	VH-VL		
19680	N/A	H1.281	L1.192	VH-VL		
19681	N/A	H1.282	L1.192	VH-VL		
19682	N/A	H1.279	L1.193	VH-VL		
19683	N/A	H1.280	L1.193	VH-VL		
19684	N/A	H1.281	L1.193	VH-VL		
19685	N/A	H1.282	L1.193	VH-VL		
19686	19690	H1.279	L1.194	VH-VL	7,268E-09	70,0
19687	N/A	H1.280	L1.194	VH-VL		
19688	N/A	H1.281	L1.194	VH-VL		
19689	19691	H1.282	L1.194	VH-VL	1,212E-08	70,5
N/A	19692	H1.279	L1.194	VL-VH		71,5
N/A	19693	H1.282	L1.194	VL-VH		71,5
N/A	21215	H1.280	L1.224	VH-VL		65,0
N/A	21216	H1.280	L1.224	VL-VH		66,5

ES 2 995 596 T3

Figura 24A

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
9950	19533	H0	L0	5,61E-09	3,29E-08	75,8	63,9	65	0	82	0
19211	19745	H0,1	L0	6,33E-09	n.t.	75,5	64	65	0	82	0
19212	19746	H0,2	L0	5,60E-09	n.t.	74,8	63	61	-4	82	0
19213	19747	H0,3	L0	6,39E-09	n.t.	75	63,5	65	0	82	0
19214	19748	H0,4	L0	6,49E-09	n.t.	71,5	58	56	-9	82	0
19215	19749	H0,5	L0	1,09E-08	n.t.	74,5	n.t.	52	-13	82	0
19216	19750	H0,6	L0	6,60E-09	n.t.	76	63,5	56	-9	82	0
19217	19751	H0,7	L0	1,55E-08	n.t.	75,5	n.t.	56	-9	82	0
19218	19752	H0,8	L0	6,94E-09	n.t.	78	66	65	0	82	0
19219	19753	H0,9	L0	6,20E-09	n.t.	75,5	65,5	56	-9	82	0
19220	19754	H0,10	L0	3,25E-08	n.t.	n.t.	n.t.	59	-6	82	0
19221	19755	H0,11	L0	4,12E-08	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19222	19756	H0,12	L0	1,08E-08	n.t.	76	64,5	63	-2	82	0
19223	19757	H0,13	L0	7,05E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19224	19758	H0,14	L0	4,24E-08	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19225	19759	H0,15	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19226	19760	H0,16	L0	1,29E-08	n.t.	76,5	65	63	-2	82	0
19227	19761	H0,17	L0	6,59E-08	n.t.	n.t.	n.t.	63	-2	82	0
19228	19762	H0,18	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19229	19763	H0,19	L0	7,02E-09	n.t.	74	61,5	64	-1	82	0
19230	19764	H0,20	L0	1,19E-08	n.t.	75,5	n.t.	64	-1	82	0
19231	19765	H0,21	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19232	19766	H0,22	L0	4,09E-08	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19233	19767	H0,23	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19234	19768	H0,24	L0	1,13E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19235	19769	H0,25	L0	5,97E-08	n.t.	n.t.	n.t.	74	9	82	0
19236	19770	H0,26	L0	5,70E-08	n.t.	n.t.	n.t.	74	9	82	0
19237	19771	H0,27	L0	6,54E-08	n.t.	n.t.	n.t.	68	3	82	0
19238	19772	H0,28	L0	4,33E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19239	19773	H0,29	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	68	3	82	0
19240	19774	H0,30	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19241	19775	H0,31	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	63	-2	82	0
19242	19776	H0,32	L0	2,87E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19243	19777	H0,33	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19244	19778	H0,34	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	63	-2	82	0
19245	19779	H0,35	L0	2,31E-08	n.t.	n.t.	n.t.	63	-2	82	0
19246	19780	H0,36	L0	4,92E-09	n.t.	74	62,5	61	-4	82	0
19247	19781	H0,37	L0	5,53E-08	n.t.	n.t.	n.t.	60	-5	82	0
19248	19782	H0,38	L0	3,63E-08	n.t.	n.t.	n.t.	66	1	82	0
19249	19783	H0,39	L0	2,64E-08	n.t.	n.t.	n.t.	68	3	82	0
19250	19784	H0,40	L0	2,80E-09	n.t.	61,5	66,5	66	1	82	0
19251	19785	H0,41	L0	1,55E-08	n.t.	63	n.t.	65	0	82	0
19252	19786	H0,42	L0	4,66E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19253	19787	H0,43	L0	4,42E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19254	19788	H0,44	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19255	19789	H0,45	L0	1,40E-08	n.t.	71	n.t.	65	0	82	0
19256	19790	H0,46	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19257	19791	H0,47	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19258	19792	H0,48	L0	5,01E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0

Figura 24B

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
19259	19793	H0.49	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19260	19794	H0.50	L0	1,41E-09	n.t.	n.t.	66,5	65	0	82	0
19261	19795	H0.51	L0	8,43E-09	n.t.	n.t.	57,5	65	0	82	0
19262	19796	H0.52	L0	1,13E-08	3,69E-08	74,5	n.t.	65	0	82	0
19263	19801	H0.53	L0	1,27E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19264	19802	H0.54	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19265	19803	H0.55	L0	3,43E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19266	19804	H0.56	L0	5,95E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19267	19805	H0.57	L0	9,15E-09	n.t.	62,5	62	65	0	82	0
19268	19806	H0.58	L0	3,93E-09	n.t.	58,5	59	65	0	82	0
19269	19807	H0.59	L0	1,91E-09	n.t.	73	60	65	0	82	0
19270	19808	H0.60	L0	7,46E-09	n.t.	63,5	59,5	65	0	82	0
19271	19809	H0.61	L0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19272	19810	H0.62	L0	5,48E-08	n.t.	n.t.	n.t.	56	-9	82	0
19273	19811	H0.63	L0	3,66E-09	n.t.	58	59	65	0	82	0
19274	19812	H0.64	L0	2,04E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19275	19813	H0.65	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	56	-9	82	0
19276	19814	H0.66	L0	2,08E-08	n.t.	59,5	n.t.	65	0	82	0
19277	19815	H0.67	L0	1,10E-08	n.t.	58,5	n.t.	65	0	82	0
19278	19816	H0.68	L0	7,32E-09	n.t.	62	63,5	65	0	82	0
19279	19817	H0.69	L0	1,79E-08	n.t.	58	n.t.	65	0	82	0
19280	19818	H0.70	L0	1,42E-08	n.t.	56,5	n.t.	71	6	82	0
19281	19819	H0.71	L0	3,00E-08	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19282	19820	H0.72	L0	5,00E-07	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19283	19821	H0.73	L0	2,07E-09	n.t.	76	64,5	64	-1	82	0
19284	19822	H0.74	L0	1,24E-08	n.t.	59	n.t.	64	-1	82	0
19285	19823	H0.75	L0	3,55E-09	n.t.	76	65	64	-1	82	0
19286	19824	H0.76	L0	1,08E-08	n.t.	76,5	65	64	-1	82	0
19287	19825	H0.77	L0	3,42E-08	n.t.	n.t.	n.t.	64	-1	82	0
19288	19826	H0.78	L0	2,10E-08	n.t.	75,5	n.t.	64	-1	82	0
19289	19827	H0.79	L0	3,79E-08	n.t.	n.t.	n.t.	62	-3	82	0
19290	19828	H0.80	L0	1,24E-08	n.t.	75,5	n.t.	62	-3	82	0
19291	19829	H0.81	L0	5,65E-09	n.t.	74,5	63	59	-6	82	0
19292	19830	H0.82	L0	5,13E-09	n.t.	73,5	62,5	56	-9	82	0
19293	19831	H0.83	L0	5,33E-09	n.t.	72,5	61,5	56	-9	82	0
19294	19832	H0.84	L0	7,94E-09	n.t.	67,5	n.t.	56	-9	82	0
19295	19833	H0.85	L0	2,10E-09	n.t.	70	55,5	56	-9	82	0
19296	19834	H0.86	L0	6,78E-09	n.t.	75,8	65	56	-9	82	0
19301	19835	H0.87	L0	5,15E-08	n.t.	n.t.	n.t.	56	-9	82	0
19302	19836	H0.88	L0	9,63E-09	n.t.	73,5	n.t.	58	-7	82	0
19303	19837	H0.89	L0	2,12E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19304	19838	H0.90	L0	7,82E-09	n.t.	75,5	55,5	65	0	82	0
19305	19839	H0.91	L0	6,11E-09	n.t.	75,5	65	61	-4	82	0
19306	19840	H0.92	L0	5,72E-09	n.t.	73,5	61	65	0	82	0
19307	19841	H0.93	L0	5,13E-09	n.t.	74,5	63,5	56	-9	82	0
19308	19842	H0.94	L0	5,90E-09	n.t.	75,5	64	56	-9	82	0
19309	19843	H0.95	L0	1,02E-08	n.t.	76	64	56	-9	82	0
19310	19844	H0.96	L0	1,53E-08	n.t.	77	65,5	57	-8	82	0
19311	19845	H0.97	L0	6,30E-09	3,17E-08	76	64	65	0	82	0

ES 2 995 596 T3

Figura 24C

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv	VH 9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
19312	19846	H0.98	L0	7,36E-09	3,38E-08	74,5	61,5	70	5	82	0
19313	19847	H0.99	L0	7,01E-09	3,53E-08	76	63,5	71	6	82	0
19314	19848	H0.100	L0	1,10E-08	3,14E-08	75,5	n.t.	65	0	82	0
19315	19849	H0.101	L0	2,90E-08	5,00E-07	72	n.t.	65	0	82	0
19316	19850	H0.102	L0	3,48E-08	5,00E-07	79	n.t.	65	0	82	0
19317	19851	H0.103	L0	1,02E-08	3,68E-08	77,5	65,5	65	0	82	0
19318	19852	H0.104	L0	5,00E-07	5,00E-07	72,5	n.t.	65	0	82	0
19319	19853	H0.105	L0	5,00E-07	5,00E-07	78,5	n.t.	65	0	82	0
19320	19854	H0.106	L0	2,37E-08	5,00E-07	74	n.t.	65	0	82	0
19321	19855	H0.107	L0	5,00E-07	5,00E-07	70	n.t.	65	0	82	0
19322	19856	H0.108	L0	1,67E-08	2,17E-08	76,5	64,5	65	0	82	0
19323	19857	H0.109	L0	1,51E-08	4,39E-08	77	65	65	0	82	0
19324	19858	H0.110	L0	5,00E-07	5,00E-07	76,5	n.t.	65	0	82	0
19325	19859	H0.111	L0	6,52E-09	3,30E-08	76	64	65	0	82	0
19326	19860	H0.112	L0	5,00E-07	5,00E-07	77	n.t.	65	0	82	0
19327	19861	H0.113	L0	1,12E-08	3,64E-08	76,5	65	65	0	82	0
19328	19862	H0.114	L0	3,64E-09	2,28E-08	76,5	64,5	65	0	82	0
19329	19863	H0.115	L0	1,19E-08	4,10E-08	76	n.t.	65	0	82	0
19330	19864	H0.116	L0	3,45E-08	5,00E-07	76	n.t.	65	0	82	0
19331	19865	H0.117	L0	5,00E-07	5,00E-07	76,5	n.t.	65	0	82	0
19332	19866	H0.118	L0	1,65E-08	5,00E-07	76	n.t.	65	0	82	0
19333	19867	H0.119	L0	5,00E-07	5,00E-07	73,5	n.t.	65	0	82	0
19334	19868	H0.120	L0	5,00E-07	5,00E-07	73,5	n.t.	65	0	82	0
19335	19869	H0.121	L0	5,00E-07	5,00E-07	74	n.t.	65	0	82	0
19336	19870	H0.122	L0	2,20E-08	5,00E-07	75,5	n.t.	64	-1	82	0
19337	19871	H0.123	L0	2,25E-08	5,00E-07	75,5	n.t.	64	-1	82	0
19338	19872	H0.124	L0	5,00E-07	5,00E-07	71	n.t.	63	-2	82	0
19339	19873	H0.125	L0	3,08E-08	5,00E-07	75	n.t.	63	-2	82	0
19340	19874	H0.126	L0	5,00E-07	5,00E-07	70,5	n.t.	63	-2	82	0
19341	19875	H0.127	L0	3,20E-08	5,00E-07	70,5	n.t.	63	-2	82	0
19342	19876	H0.128	L0	1,84E-08	5,00E-07	71	n.t.	63	-2	82	0
19343	19877	H0.129	L0	5,00E-07	5,00E-07	72	n.t.	63	-2	82	0
19344	19878	H0.130	L0	6,51E-09	3,93E-08	76	64	63	-2	82	0
19345	19879	H0.131	L0	5,82E-09	3,40E-08	78	66,5	62	-3	82	0
19346	19880	H0.132	L0	6,46E-09	3,82E-08	74,5	62,5	65	0	82	0
19347	19881	H0.133	L0	2,03E-08	4,95E-08	77,5	n.t.	62	-3	82	0
19348	19882	H0.134	L0	1,58E-07	5,00E-07	Señal baja	64,5	62	-3	82	0
19349	19883	H0.135	L0	6,69E-09	4,03E-08	76,5	64,5	62	-3	82	0
19350	19884	H0.136	L0	7,41E-09	4,21E-08	75,5	63	62	-3	82	0
19416	19885	H0	L0.1	1,14E-08	4,63E-08	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19417	19886	H0	L0.2	6,94E-09	3,77E-08	75,5	62	65	0	81	-1
19418	19887	H0	L0.3	9,31E-09	4,19E-08	75,5	Señal baja	65	0	81	-1
19419	19888	H0	L0.4	1,95E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19420	19889	H0	L0.5	8,28E-09	3,95E-08	76	Señal baja	65	0	79	-3
19421	19890	H0	L0.6	5,00E-07	5,16E-08	n.t.	n.t.	65	0	71	-11
19422	19891	H0	L0.7	1,36E-08	7,79E-08	n.t.	n.t.	65	0	78	-4
19423	19892	H0	L0.8	1,07E-08	5,50E-08	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19424	19893	H0	L0.9	8,18E-09	4,70E-08	76,5	64,5	65	0	78	-4
19425	19894	H0	L0.10	8,97E-09	4,60E-08	76,5	64,5	65	0	73	-9

ES 2 995 596 T3

Figura 24D

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab	scFv	VH T _m (°C)	VL T _m (°C)	9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
19426	19895	H0	L0.11	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9		
19427	19896	H0	L0.12	7,59E-09	4,14E-08	77	63,5	65	0	77	-5		
19428	19901	H0	L0.13	9,71E-09	5,19E-08	75,5	63	65	0	73	-9		
19429	19902	H0	L0.14	8,04E-09	4,90E-08	76	63,5	65	0	73	-9		
19430	19903	H0	L0.15	9,79E-09	5,37E-08	73,5	61	65	0	82	0		
19431	19904	H0	L0.16	1,43E-08	5,23E-08	n.t.	n.t.	65	0	73	-9		
19432	19905	H0	L0.17	2,17E-08	4,96E-08	n.t.	n.t.	65	0	73	-9		
19433	19906	H0	L0.18	8,28E-09	4,59E-08	75,5	62,5	65	0	77	-5		
19434	19907	H0	L0.19	2,86E-09	1,64E-08	72	57,5	65	0	81	-1		
19435	19908	H0	L0.20	5,00E-07	9,64E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19436	19909	H0	L0.21	1,79E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	82	0		
19437	19910	H0	L0.22	1,46E-08	5,28E-08	n.t.	64,5	65	0	91	9		
19438	19911	H0	L0.23	2,02E-08	5,47E-08	n.t.	n.t.	65	0	82	0		
19439	19912	H0	L0.24	1,26E-08	5,36E-08	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19440	19913	H0	L0.25	4,60E-09	2,85E-08	76	64	65	0	81	-1		
19441	19914	H0	L0.26	9,55E-09	4,17E-08	76	64	65	0	81	-1		
19442	19915	H0	L0.27	1,20E-08	5,58E-08	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19443	19916	H0	L0.28	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19444	19917	H0	L0.29	2,09E-08	5,16E-08	n.t.	n.t.	65	0	80	-2		
19445	19918	H0	L0.30	1,10E-08	5,42E-08	n.t.	n.t.	65	0	80	-2		
19446	19919	H0	L0.31	8,90E-09	4,62E-08	76,5	65	65	0	81	-1		
19447	19920	H0	L0.32	8,69E-09	5,14E-08	76	64,5	65	0	80	-2		
19448	19921	H0	L0.33	1,37E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	80	-2		
19449	19922	H0	L0.34	4,27E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19450	19923	H0	L0.35	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	79	-3		
19451	19924	H0	L0.36	1,60E-08	5,00E-07	n.t.	63,5	65	0	79	-3		
19452	19925	H0	L0.37	7,60E-09	3,37E-08	75	63	65	0	79	-3		
19453	19926	H0	L0.38	5,73E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1		
19454	19927	H0	L0.39	2,39E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	79	-3		
19455	19928	H0	L0.40	1,15E-08	3,66E-08	73,5	60,5	65	0	79	-3		
19456	19929	H0	L0.41	7,20E-09	3,96E-08	76	64	65	0	78	-4		
19457	19930	H0	L0.42	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	77	-5		
19458	19931	H0	L0.43	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	68	-14		
19459	19932	H0	L0.44	3,85E-08	5,00E-07	n.t.	60	65	0	82	0		
19460	19933	H0	L0.45	7,16E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	82	0		
19461	19934	H0	L0.46	9,56E-09	5,16E-08	72	Señal baja	65	0	74	-8		
19462	19935	H0	L0.47	1,91E-08	4,75E-08	n.t.	n.t.	65	0	75	-7		
19463	19936	H0	L0.48	9,34E-09	4,70E-08	75	61,5	65	0	74	-8		
19464	19937	H0	L0.49	1,10E-08	4,42E-08	n.t.	n.t.	65	0	68	-14		
19465	19938	H0	L0.50	9,39E-09	4,63E-08	71,5	58	65	0	73	-9		
19466	19939	H0	L0.51	7,20E-09	4,05E-08	75	62,5	65	0	75	-7		
19467	19940	H0	L0.52	7,50E-09	3,91E-08	75	62,5	65	0	74	-8		
19468	19941	H0	L0.53	1,87E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	74	-8		
19469	19942	H0	L0.54	2,15E-08	4,66E-08	n.t.	n.t.	65	0	76	-6		
19470	19943	H0	L0.55	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9		
19471	19944	H0	L0.56	5,75E-09	3,57E-08	76	64	65	0	73	-9		
19472	19945	H0	L0.57	7,61E-09	3,87E-08	73	60	65	0	75	-7		
19473	19946	H0	L0.58	7,85E-09	4,46E-08	n.t.	n.t.	65	0	66	-16		
19474	19947	H0	L0.59	7,36E-09	4,29E-08	75,5	63,5	65	0	75	-7		

Figura 24E

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
19475	19948	H0	L0.60	6,52E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	76	-6
19476	19949	H0	L0.61	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19477	19950	H0	L0.62	2,36E-08	5,40E-08	n.t.	n.t.	65	0	79	-3
19478	19951	H0	L0.63	8,66E-09	5,13E-08	75	62,5	65	0	79	-3
19479	19952	H0	L0.64	2,65E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	79	-3
19480	19953	H0	L0.65	1,23E-08	4,90E-08	n.t.	n.t.	65	0	79	-3
19481	19954	H0	L0.66	1,55E-08	5,53E-08	n.t.	n.t.	65	0	79	-3
19482	19955	H0	L0.67	5,00E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19483	19956	H0	L0.68	6,98E-09	4,30E-08	75,5	63	65	0	80	-2
19484	19957	H0	L0.69	1,62E-08	4,75E-08	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19485	19958	H0	L0.70	6,58E-09	4,02E-08	76	64,5	65	0	82	0
19486	19959	H0	L0.71	8,41E-09	4,21E-08	76	64,5	65	0	82	0
19487	19960	H0	L0.72	9,76E-09	4,90E-08	75	63	65	0	82	0
19488	19961	H0	L0.73	4,75E-09	n.t.	76,5	65	65	0	91	9
19489	19962	H0	L0.74	9,11E-09	n.t.	76	64,5	65	0	82	0
19490	19963	H0	L0.75	3,53E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19491	19964	H0	L0.76	4,95E-08	n.t.	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19492	19965	H0	L0.77	6,63E-09	n.t.	76,5	65,5	65	0	81	-1
19493	19966	H0	L0.78	4,18E-09	n.t.	76,5	65	65	0	81	-1
19494	19967	H0	L0.79	5,13E-09	3,81E-08	76	64	65	0	81	-1
19495	19968	H0	L0.80	4,44E-09	2,91E-08	72,5	59,5	65	0	79	-3
19496	19969	H0	L0.81	6,03E-09	3,61E-08	75,5	64	65	0	78	-4
19501	19970	H0	L0.82	5,34E-09	3,25E-08	76	64	65	0	78	-4
19502	19971	H0	L0.83	5,18E-09	3,14E-08	75,5	63,5	65	0	81	-1
19503	19972	H0	L0.84	5,22E-09	3,20E-08	74	61,5	65	0	73	-9
19504	19973	H0	L0.85	4,90E-09	3,00E-08	76	64,5	65	0	80	-2
19505	19974	H0	L0.86	3,51E-09	2,66E-08	74,5	61,5	65	0	77	-5
19506	19975	H0	L0.87	7,35E-09	4,11E-08	75,5	63,5	65	0	82	0
19507	19976	H0	L0.88	6,06E-09	3,73E-08	n.t.	n.t.	65	0	82	0
19508	19977	H0	L0.89	6,40E-09	3,95E-08	75,5	64,5	65	0	73	-9
19509	19978	H0	L0.90	7,22E-09	3,74E-08	75,5	63	65	0	75	-7
19510	19979	H0	L0.91	4,69E-09	3,06E-08	75	62,5	65	0	74	-8
19511	19980	H0	L0.92	7,82E-09	4,24E-08	75	62,5	65	0	73	-9
19512	19981	H0	L0.93	7,70E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19513	19982	H0	L0.94	5,40E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19514	19983	H0	L0.95	1,71E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19515	19984	H0	L0.96	1,80E-09	1,06E-08	72,5	59,5	65	0	73	-9
19516	19985	H0	L0.97	8,41E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19517	19986	H0	L0.98	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19518	19987	H0	L0.99	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19519	19988	H0	L0.100	8,03E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19520	19989	H0	L0.101	1,84E-08	6,21E-08	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19521	19990	H0	L0.102	2,02E-09	2,20E-08	76	62	65	0	73	-9
19522	19991	H0	L0.103	7,60E-09	4,24E-08	75,5	65	65	0	73	-9
19523	19992	H0	L0.104	7,47E-08	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	75	-7
19524	19993	H0	L0.105	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	74	-8
19525	19994	H0	L0.106	2,33E-08	3,30E-08	n.t.	n.t.	65	0	77	-5
19526	19995	H0	L0.107	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	73	-9
19527	19996	H0	L0.108	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	80	-2

Figura 24F

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9-mer	ΔVH 9-mer	VL 9-mer	ΔVL 9-mer
19528	20001	H0	L0.109	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	77	-5
19529	20002	H0	L0.110	5,00E-07	5,00E-07	n.t.	n.t.	65	0	81	-1
19530	20003	H0	L0.111	4,58E-09	1,68E-08	73,5	60,5	65	0	73	-9
19531	20004	H0	L0.112	6,08E-09	2,93E-08	75,5	63,5	65	0	77	-5
19532	20005	H0	L0.113	6,82E-09	4,48E-08	n.t.	62	65	0	74	-8
	19534	H0.36	L0.50	n.t.	n.t.	n.t.	62,5	61	-4	73	-9
	19535	H0.36	L0.51	n.t.	n.t.	n.t.	62	61	-4	75	-7
	19536	H0.37	L0.50	n.t.	n.t.	n.t.	59,5	60	-5	73	-9
	19537	H0.37	L0.113	n.t.	n.t.	n.t.	63,5	60	-5	74	-8
	19538	H0.134	L0.51	n.t.	n.t.	n.t.	64	62	-3	75	-7
20006	19539	H0.134	L0.53	5,02E-09	2,00E-08	75,5	65	62	-3	74	-8
	19540	H0.134	L0.57	n.t.	n.t.	n.t.	61	62	-3	75	-7
	19541	H0.137	L0.114	n.t.	n.t.	n.t.	66	60	-5	74	-8
	19542	H0.138	L0.115	n.t.	n.t.	n.t.	64	59	-6	73	-9
	19543	H0.139	L0.116	n.t.	n.t.	n.t.	62,5	59	-6	73	-9
19585	19587	H0.140	L0	2,83E-09	1,76E-08	78,5	68	56	-9	82	0
19586	19588	H0	L0.117	4,09E-09	2,52E-08	76,5	63,5	65	0	69	-13
19544	19551	H1	L0	1,77E-08	2,51E-08	74,5	61,5	70	5	82	0
19545	19552	H2	L0	1,10E-07	5,00E-07	n.t.	66,5	69	4	82	0
19546	19553	H3	L0	2,87E-09	1,92E-08	78,3	65,9	72	7	82	0
19547	19554	H4	L0	5,00E-07	5,00E-07	67,5	51,8	71	6	82	0
19548	19555	H0	L1	7,42E-09	4,37E-08	73,5	59,8	65	0	81	-1
19549	19556	H0	L2	3,15E-09	2,32E-08	75	61	65	0	81	-1
9950	19550	H0	L0	5,61E-09	3,29E-08	75,8	63,5	65	0	82	0
20007		H3	L1	3,35E-09	1,89E-08	75	n.t.	72	7	81	-1
20008		H3	L2	1,41E-09	1,28E-08	77	n.t.	72	7	81	-1
20009		H3	L0.12	2,46E-09	1,71E-08	79	n.t.	72	7	77	-5
20010		H3	L0.18	2,17E-09	1,57E-08	77	n.t.	72	7	77	-5
20011		H3	L0.22	4,13E-09	2,46E-08	78,5	n.t.	72	7	91	9
20012		H3	L0.27	1,31E-09	1,04E-08	77,5	n.t.	72	7	81	-1
20013		H3	L0.32	1,59E-09	1,48E-08	78,5	n.t.	72	7	80	-2
20014		H3	L0.36	3,75E-09	2,39E-08	77,5	n.t.	72	7	79	-3
20015		H3	L0.37	1,44E-09	1,06E-08	77	n.t.	72	7	79	-3
20016		H3	L0.39	1,29E-08	3,75E-08	77,5	n.t.	72	7	79	-3
20017		H3	L0.41	1,84E-09	1,65E-08	78	n.t.	72	7	78	-4
20018		H3	L0.67	3,49E-08	5,00E-07	77,5	n.t.	72	7	82	0
20019		H3	L0.69	2,64E-09	n.t.	77,5	n.t.	72	7	81	-1
20020		H3	L0.74	2,68E-09	n.t.	78,8	n.t.	72	7	82	0
20021		H3	L0.75	2,81E-09	n.t.	78	n.t.	72	7	81	-1
20022		H3	L0.103	3,69E-09	2,64E-08	78	n.t.	72	7	73	-9
20052		H3	L0.44	6,78E-09	4,20E-08	75,8	n.t.	72	7	82	0
20068	20075	H3.1	L0.12	5,37E-10	3,64E-09	81	69	68	3	77	-5
20069	20076	H3.2	L0.12	6,24E-10	4,10E-09	81	69,5	68	3	77	-5
20070	20077	H3.3	L0.12	2,21E-09	1,08E-08	81	67	68	3	77	-5
20071	20078	H3.4	L0.12	1,37E-09	6,14E-09	81	69,5	68	3	77	-5
20072	20079	H3.5	L0.12	3,72E-09	1,59E-08	81,5	70	68	3	77	-5
20073	20080	H3.6	L0.12	8,14E-09	2,59E-08	81,5	69,5	68	3	77	-5
20074	20081	H3.7	L0.12	1,58E-09	1,11E-08	80	67	62	-3	77	-5
20323	20360	H3.9	L0.12	1,16E-09	5,54E-09	n.t.	69,5	68	3	77	-5

Figura 24G

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	CTLA-4 humano Fab K _D (M)	CTLA-4 Cyno Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv	VH	ΔVH 9-mer	VL	ΔVL 9-mer
20324	20361	H3.10	L0.12	7,08E-10	3,34E-09	n.t.	68,5	68	3	77	-5
20325	20362	H3.11	L0.12	1,65E-09	6,52E-09	n.t.	71	68	3	77	-5
20326	20363	H3.12	L0.12	1,20E-08	4,13E-08	n.t.	70	68	3	77	-5
20327	20364	H3.13	L0.12	8,15E-10	4,56E-09	n.t.	70	68	3	77	-5
20328	20365	H3.14	L0.12	3,46E-09	1,95E-08	n.t.	69,5	68	3	77	-5
20329	20366	H3.15	L0.12	8,65E-09	3,62E-08	n.t.	71,5	68	3	77	-5
20330	20367	H3.16	L0.12	1,56E-08	6,23E-08	n.t.	70,5	68	3	77	-5
20331	20368	H3.17	L0.12	3,93E-09	2,51E-08	n.t.	70,5	68	3	77	-5
20332	20369	H3.18	L0.12	1,71E-08	8,46E-08	n.t.	69,5	68	3	77	-5
20333	20370	H3.19	L0.12	4,09E-09	1,60E-08	n.t.	71,5	68	3	77	-5
20334	20371	H3.20	L0.12	2,59E-08	2,54E-06	n.t.	70,5	68	3	77	-5
20335	20372	H3.21	L0.12	1,55E-09	9,54E-09	n.t.	71	68	3	77	-5
20336	20373	H3.22	L0.12	7,49E-09	2,98E-08	n.t.	69,5	68	3	77	-5
20337	20374	H3.23	L0.12	1,17E-09	4,78E-09	n.t.	70,5	68	3	77	-5
20338	20375	H3.24	L0.12	8,44E-09	2,96E-08	n.t.	69,5	68	3	77	-5
20339	20376	H3.25	L0.12	4,51E-10	2,75E-09	n.t.	69,5	68	3	77	-5
20340	20377	H3.26	L0.12	1,97E-09	1,23E-08	n.t.	69	68	3	77	-5
20341	20378	H3.4	L0.118	1,55E-09	6,67E-09	n.t.	70,5	68	3	82	0
20342	20379	H3.4	L0.119	1,89E-09	8,23E-09	n.t.	70	68	3	82	0
20343	20380	H3.4	L0.120	2,70E-09	1,06E-08	n.t.	70	68	3	86	4
20344	20381	H3.4	L0.121	1,28E-09	5,54E-09	n.t.	71	68	3	86	4
20345	20382	H3.4	L0.122	1,98E-09	8,47E-09	n.t.	71	68	3	82	0
20346	20383	H3.4	L0.123	2,74E-09	1,14E-08	n.t.	71,5	68	3	91	9
20347	20384	H3.4	L0.124	1,41E-09	5,67E-09	n.t.	72,5	68	3	91	9
20348	20385	H3.4	L0.125	3,20E-09	1,37E-08	n.t.	70,5	68	3	91	9
20349	20386	H3.4	L0.126	1,68E-09	7,52E-09	n.t.	71,5	68	3	91	9
20350	20387	H3.4	L0.127	2,46E-09	9,53E-09	n.t.	72	68	3	95	13
20351	20388	H3.4	L0.128	3,16E-09	1,33E-08	n.t.	72	68	3	91	9
20352	20389	H3.4	L0.129	1,65E-09	7,31E-09	n.t.	73	68	3	91	9
20353	20390	H3.4	L0.130	2,77E-09	1,09E-08	n.t.	73	68	3	100	18
20354	20391	H3.4	L0.131	2,70E-09	1,08E-08	n.t.	72,5	68	3	100	18
20355	20392	H3.4	L0.132	2,78E-09	1,12E-08	n.t.	73,5	68	3	100	18
20356	20393	H3.5	L2	2,17E-09	1,13E-08	n.t.	67	68	3	81	-1
20357	20394	H3.5	L2.1	4,52E-09	2,41E-08	n.t.	67,5	68	3	90	8
20358	20395	H3.5	L2.2	1,90E-09	1,04E-08	n.t.	68,5	68	3	89	7
20359	20396	H3.5	L2.3	3,90E-09	2,05E-08	n.t.	69	68	3	98	16
20422	20431	H3.21	L0.124	5,55E-09	1,23E-08	n.t.	74	68	3	91	9
20423	20432	H3.21	L0.129	5,42E-09	1,36E-08	n.t.	74,5	68	3	91	9
20424	20433	H3.21	L0.132	5,27E-09	1,60E-08	n.t.	75	68	3	100	18
20425	20434	H3.23	L0.124	2,63E-09	4,99E-09	n.t.	73,5	68	3	91	9
20426	20435	H3.23	L0.129	2,97E-09	4,99E-09	n.t.	74	68	3	91	9
20427	20436	H3.23	L0.132	4,84E-09	8,89E-09	n.t.	74,5	68	3	100	18
20428	20437	H3.25	L0.124	4,80E-09	8,65E-09	n.t.	72,5	68	3	91	9
20429	20438	H3.25	L0.129	2,05E-09	3,99E-09	n.t.	73	68	3	91	9
20430	20439	H3.25	L0.132	1,80E-09	3,81E-09	n.t.	73,5	68	3	100	18

Figura 25

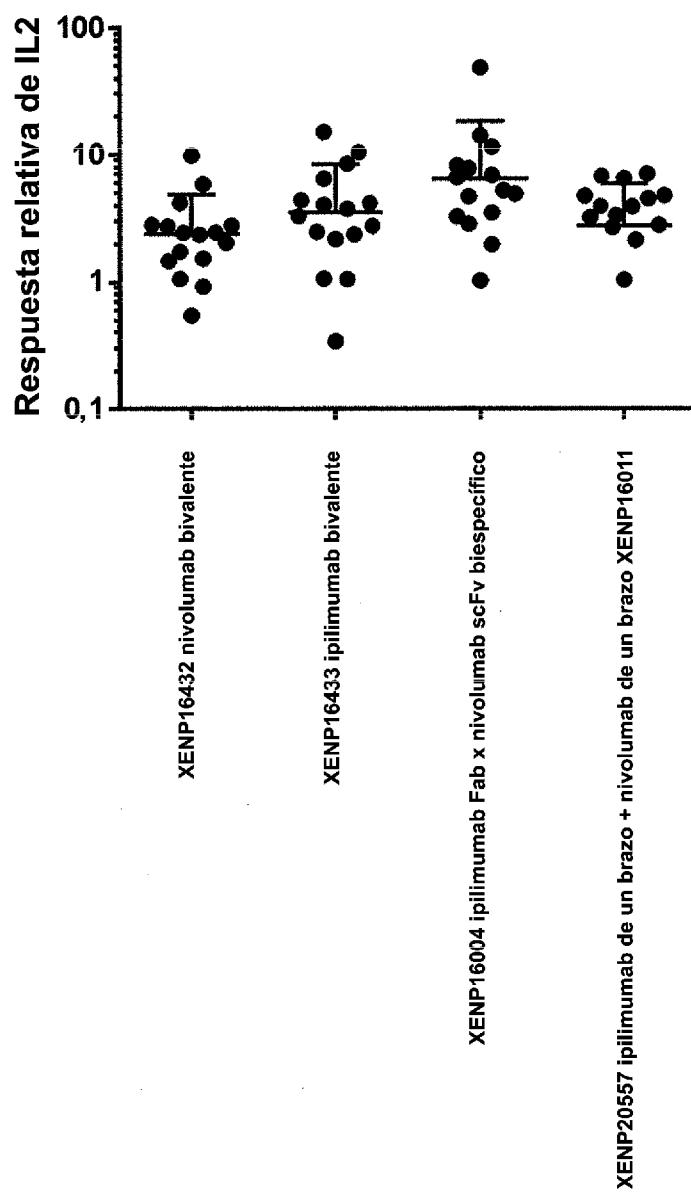


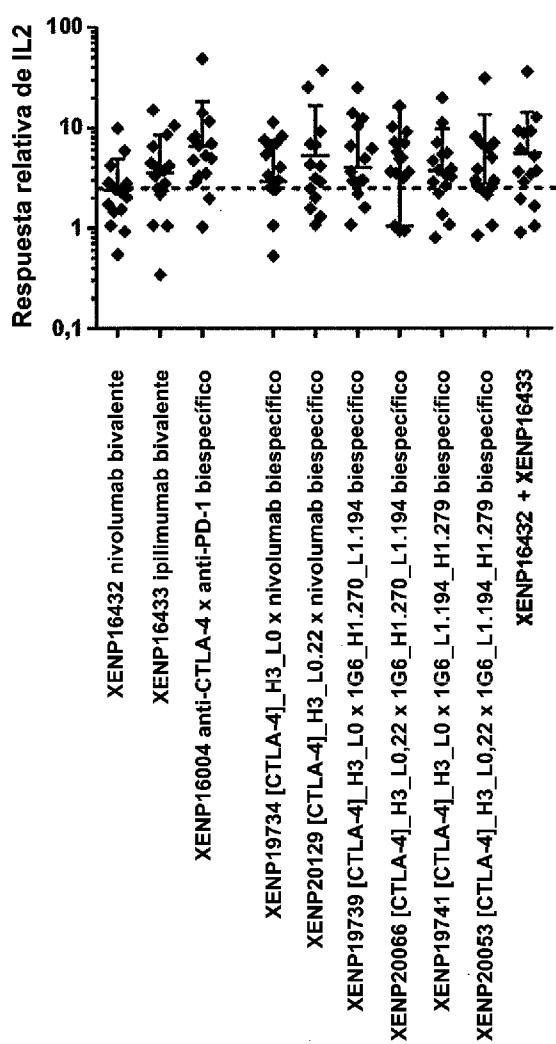
Figura 26

Figura 27

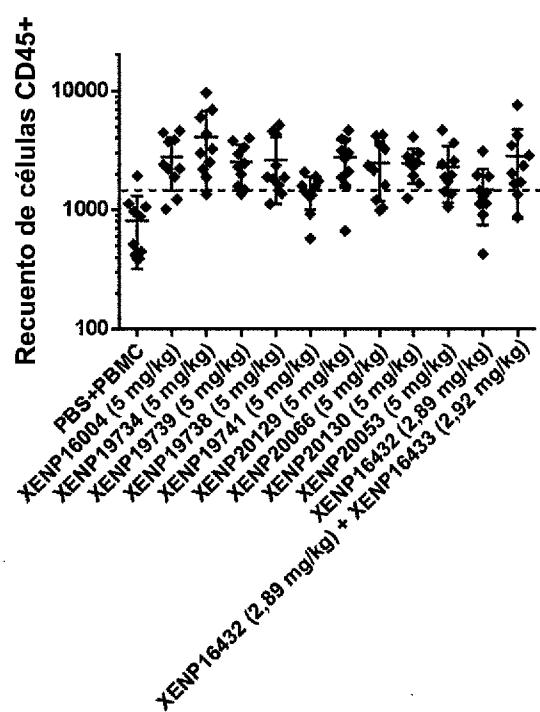


Figura 28

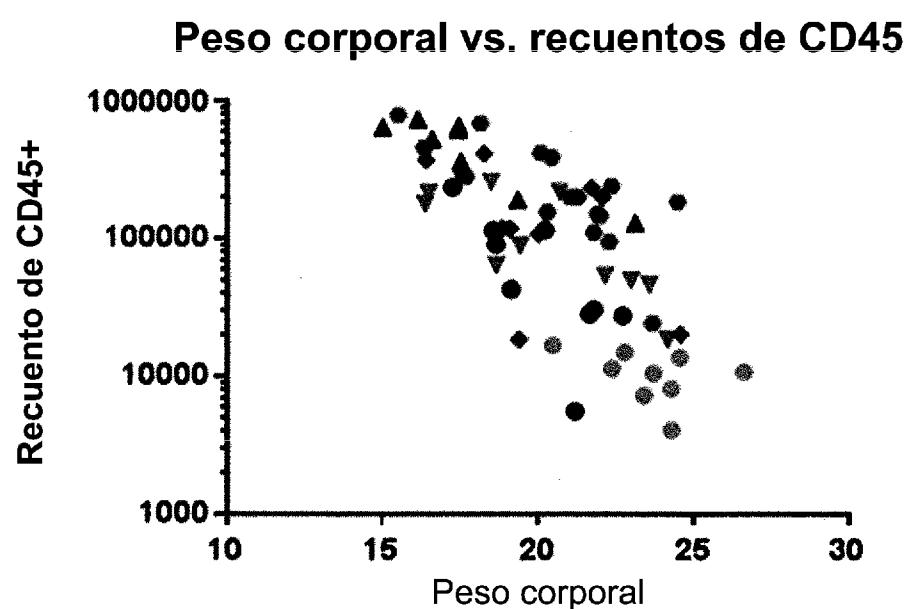


Figura 29

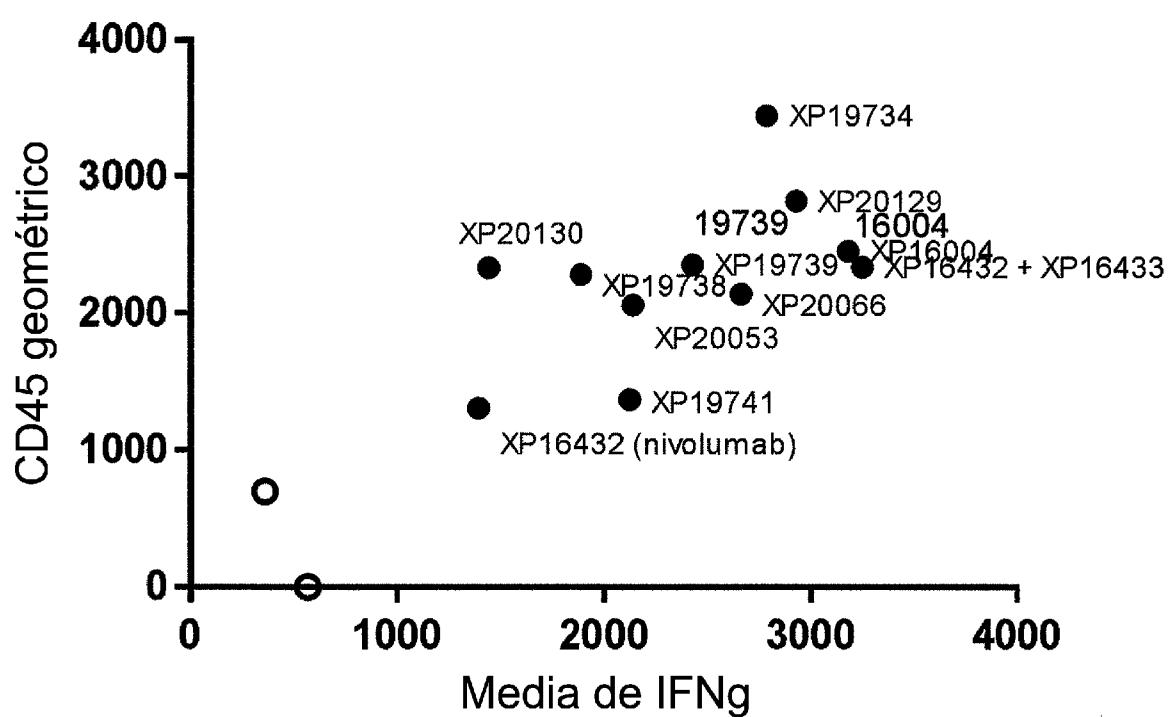


Figura 30

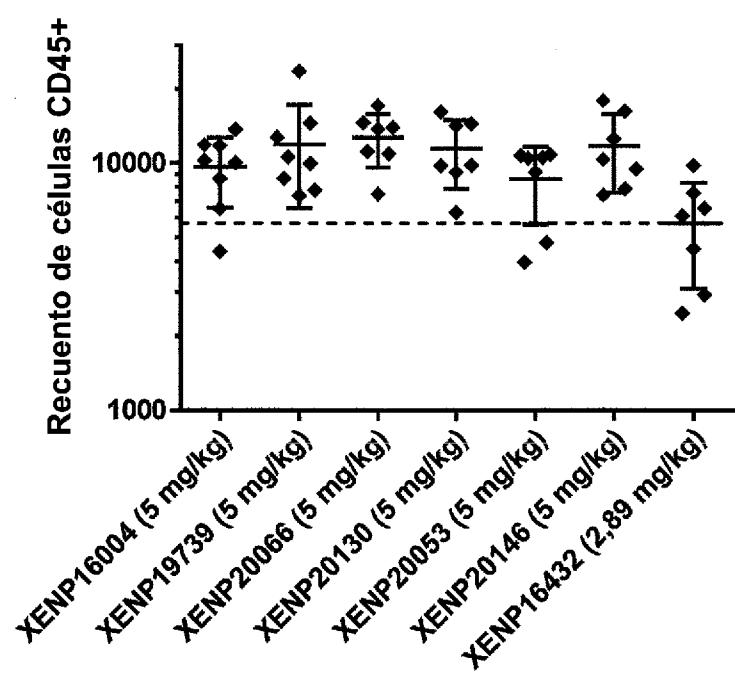


Figura 31

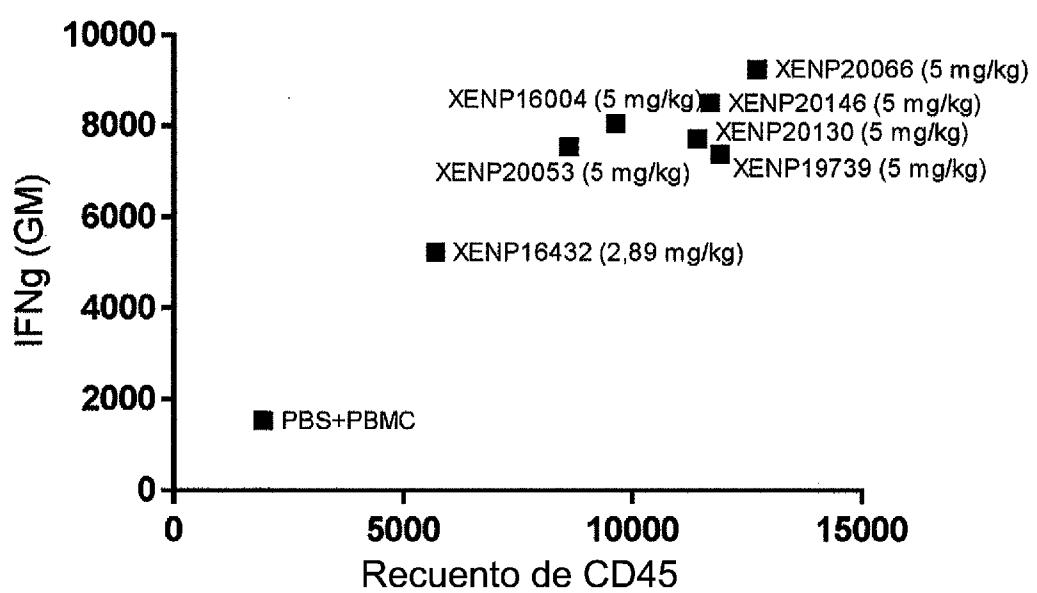


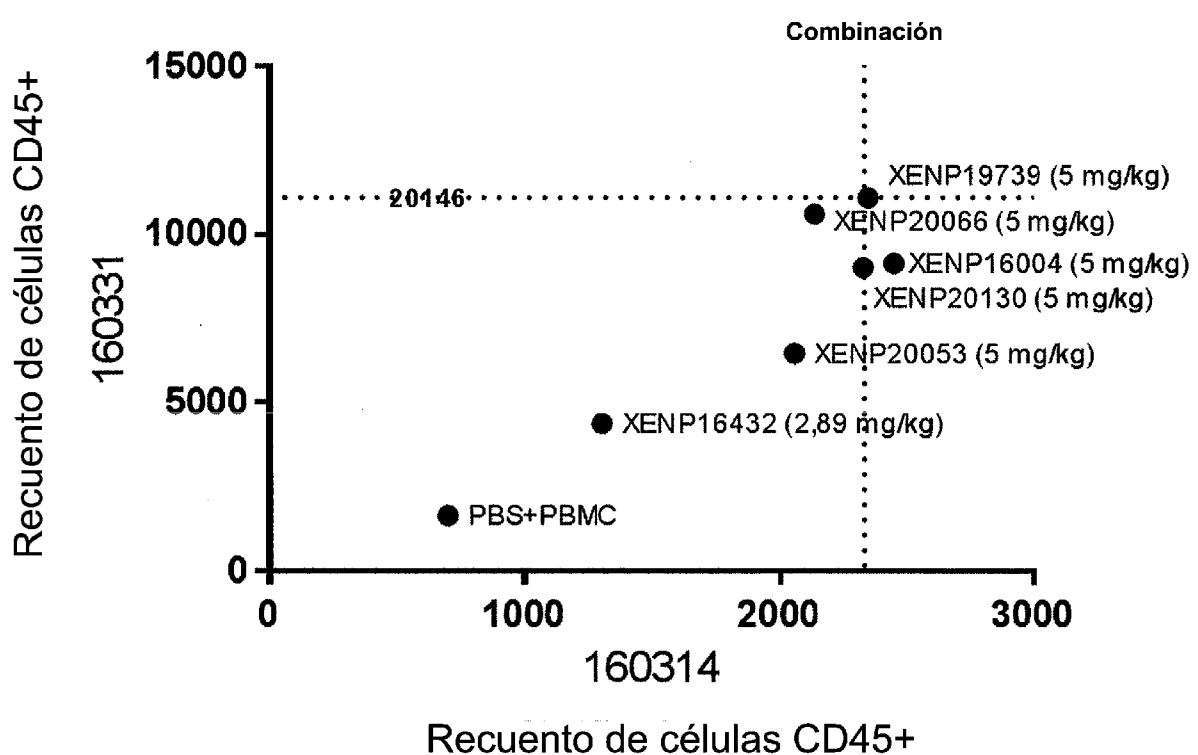
Figura 32

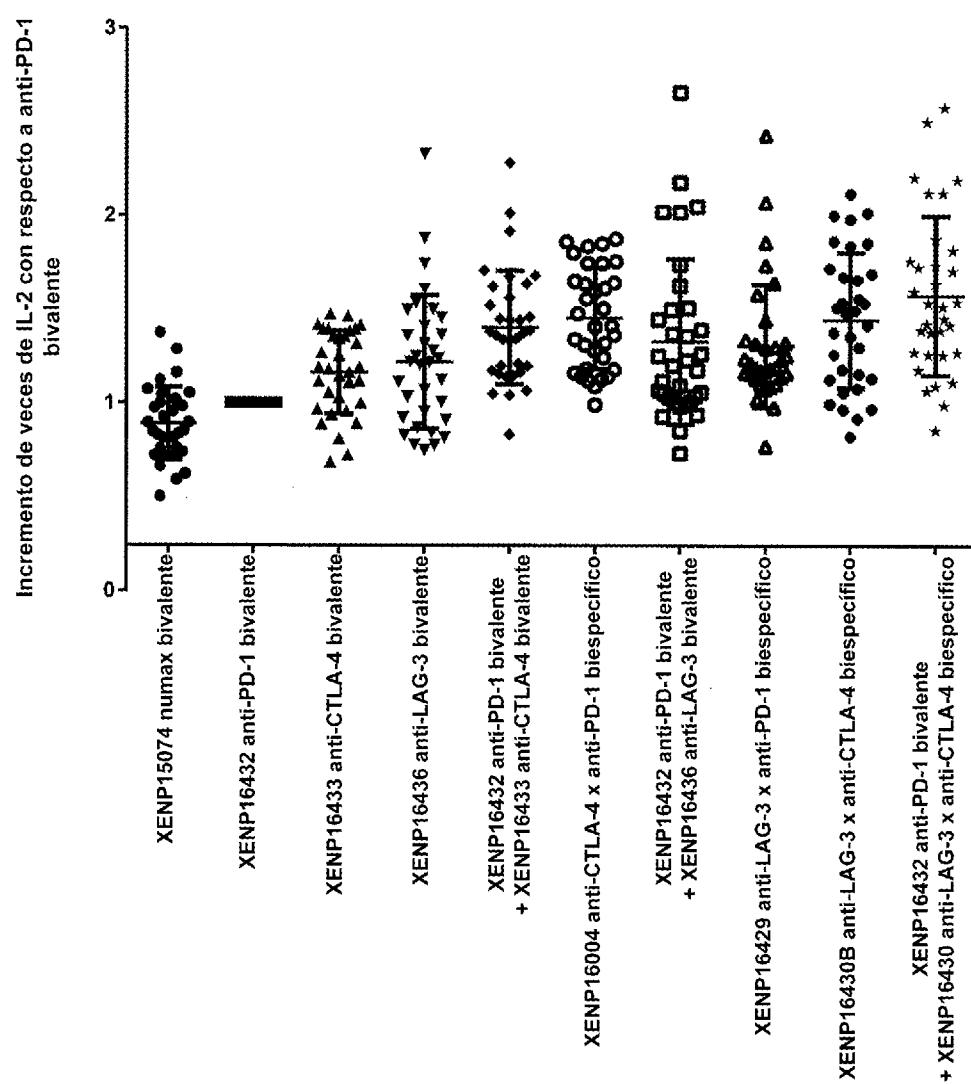
Figura 33A

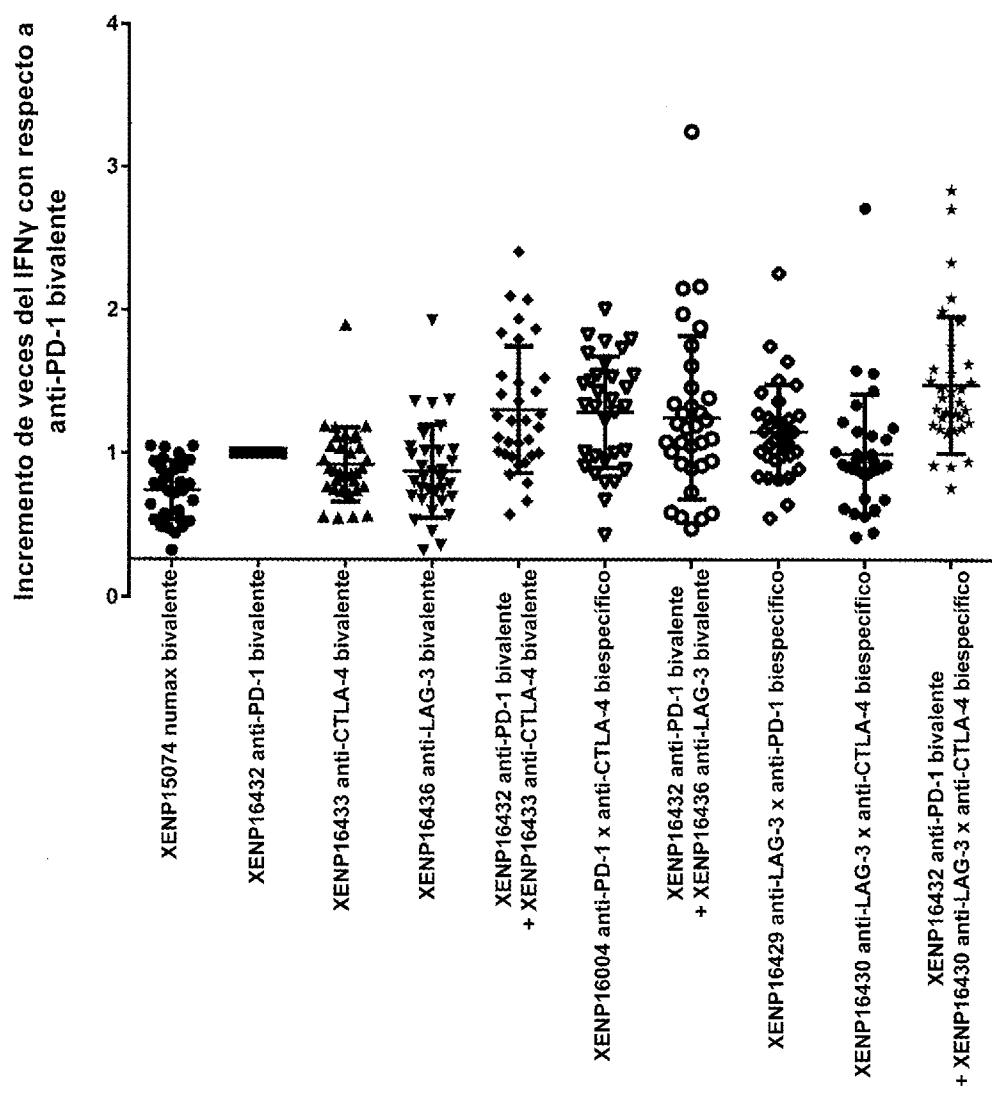
Figura 33B

Figura 34

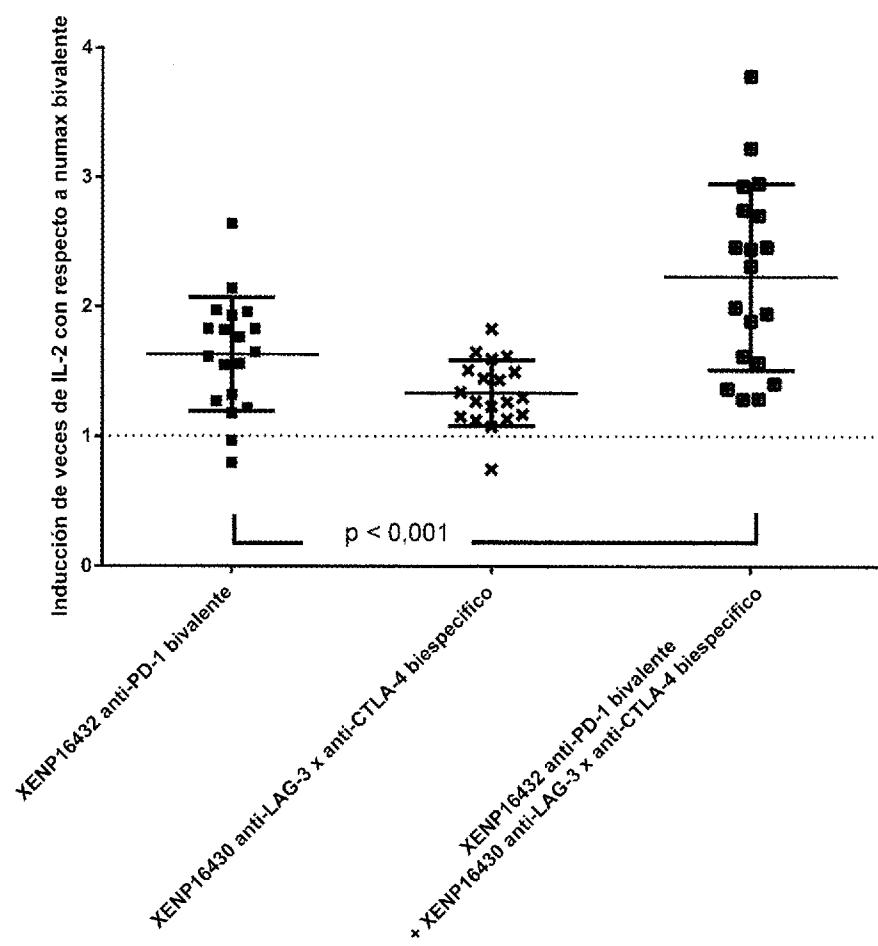


Figura 35

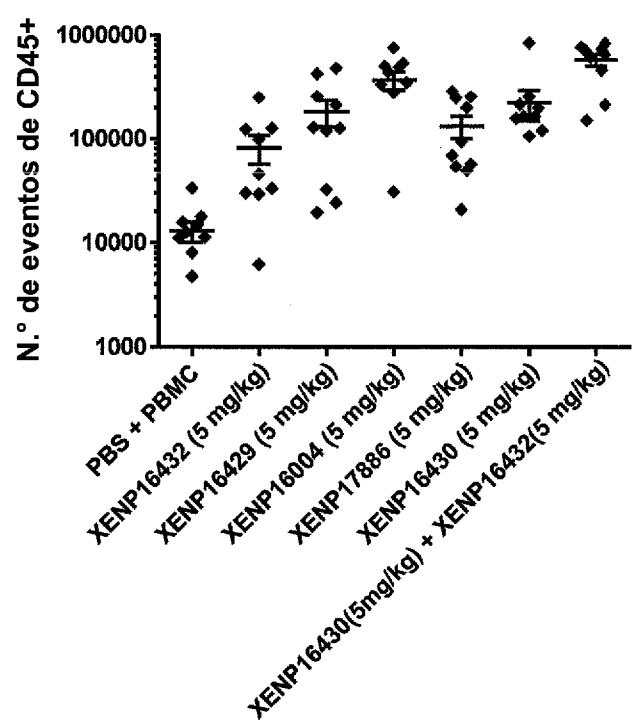


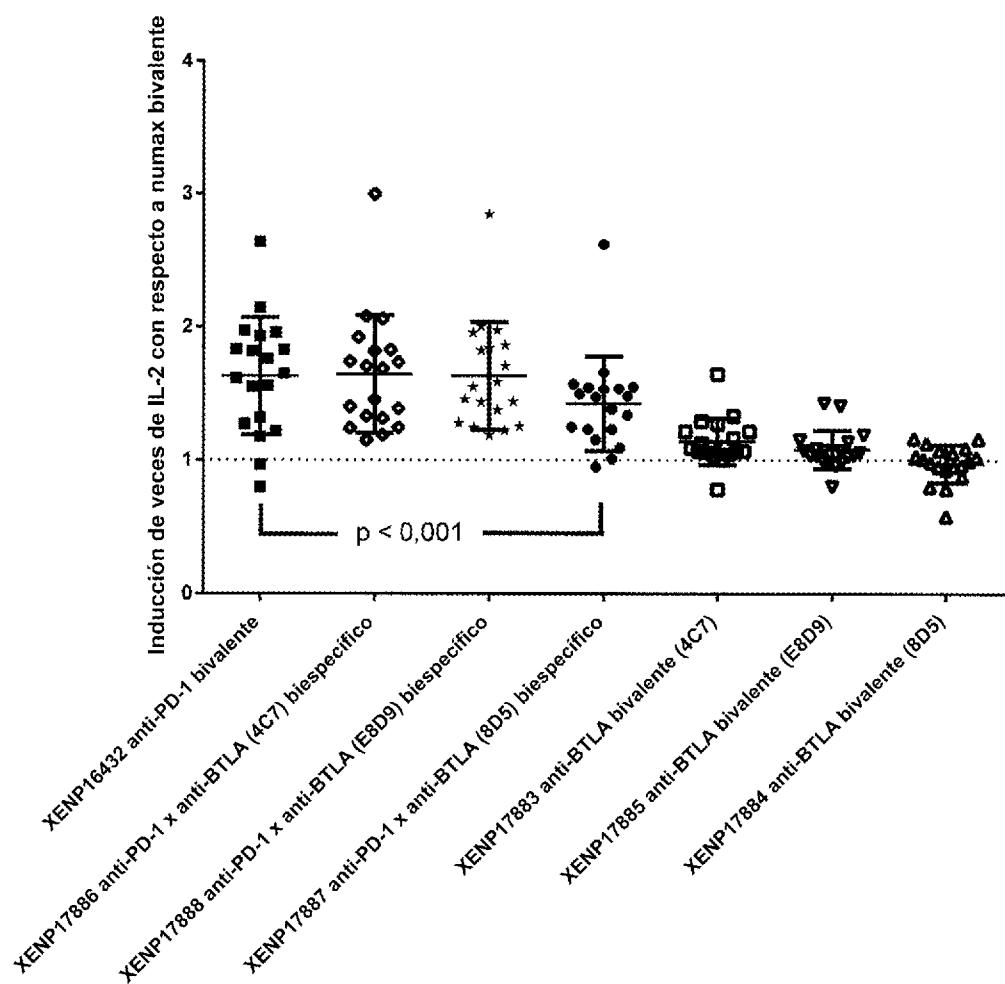
Figura 36A

Figura 36B

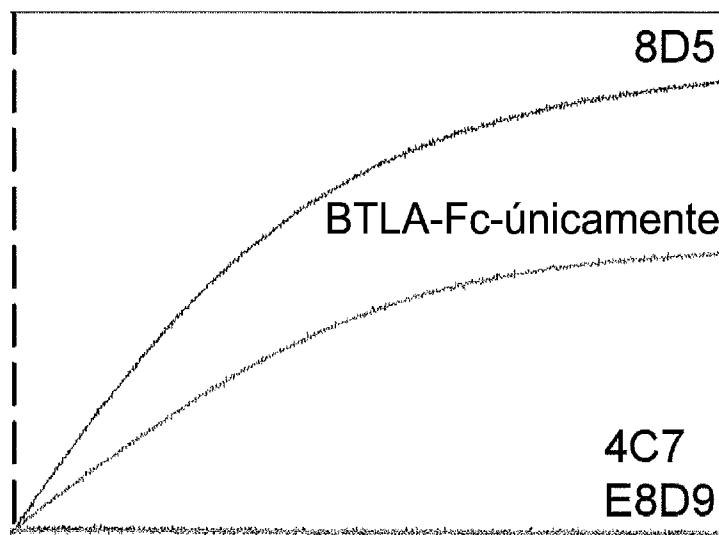


Figura 37A**Cadena principal 1 de tipo abridor de botella**

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 37725)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEEVTWSNNSGALTSGVHTFPAPIQSSGLYSISSLGTTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVPEPKSCDKTH
TCPPCPAPVAGPSVFLFPPKFKDTLMISRTPEVTKVVVDVKHEDPEVKENWYDGEVHNNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
I
EKTISAKGQPREPQVYTLPSSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 37726)

EPKSSDKTHTCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPTEKTISAKGQPREPQVYTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera constante (Id. de sec. n.º : 37727)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFTPREAKVQWKFQDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSSPVTKSFNRC
EC

Cadena principal 2 de tipo abridor de botella

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 37728)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEEVTWSNNSGALTSGVHTFPAPIQSSGLYSISSLGTTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVPEPKSCDKTH
TCPPCPAPVAGPSVFLFPPKFKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGEVHNNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
I
EKTISAKGQPREPQVYTLPSSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 37729)

EPKSSDKTHTCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPTEKTISAKGQPREPQVYTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 37B**Cadena principal 3 de tipo abridor de botella**

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 37731)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVIQLQSSGLYSSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVDGEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCEVSGFYPSDIAVEWESEGDOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 37732)

EPKSSDKTHTCPAPPVAGESVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVDGEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
ALHNHYTQOKSLSLSPGK

Cadena principal 4 de tipo abridor de botella

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 37734)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVIQLQSSGLYSSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVDGEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKSGFYPSDIAVEWESEDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLEVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 37735)

EPKSSDKTHTCPAPPVAGESVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVDGEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSLSLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
ALHNHYTQOKSLSLSPGK

Figura 37C**Cadena principal 5 de tipo abridor de botella (alotipo 356D/358L)**

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39158)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSMNSGALTSGVHTFPAVIQLSSGLYSSLSSVVTVPSSSLIGTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVICVVVDVKHEDPEVKENWYDGVDEVHNAAKTKPREEEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNAKLPAPI
 EKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCVSGFYPSDIAVEWE SDGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39159)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVICVVVDVKHEDPEVKENWYDGVDEVHNAAKTKPREEEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCVSGFYPSDIAVEWE SNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena principal 6 de tipo abridor de botella

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39160)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSMNSGALTSGVHTFPAVIQLSSGLYSSLSSVVTVPSSSLIGTQTYICNVNHHKPSDLTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVICVVVDVKHEDPEVKENWYDGVDEVHNAAKTKPREEEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNAKLPAPI
 EKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCVSGFYPSDIAVEWE SDGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39161)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVICVVVDVKHEDPEVKENWYDGVDEVHNAAKTKPREEEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCVSGFYPSDIAVEWE SNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 37D**Cadena principal 7 de tipo abridor de botella**

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39162)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVIQLQSSGLYSSLSSVVTVPSSSLIGTQTYICNVNHNKPSDLTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEEYSSSTYRVSVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNEAKLPAPI
EKTISAKGQPREPQVYTLPSPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVENE SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQR
SLSLSPGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39163)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEQYSSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPQVYTLPSPSREQMTKNQVLTICLVKGFYPSDIAVENE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME
ALHNHYTQSLSLSPGK

Cadena principal 8 de tipo abridor de botella

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39164)

ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVIQLQSSGLYSSLSSVVTVPSSSLIGTQTYICNVNHNKPSDLTKVDKRVESKYGGPCP
PCPAPEFLGGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVQKQEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEEFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISAKGQPREPQVYTLPSPSQQEEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVENE SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEEGDVFSCLTVDSLIGK

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39165)

ESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVQKQEDPEVKENWYDGVEVHNAKTKPREEQENSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISAKGQPREPQVYTLPSPSQQEOMTKNQVLTICLVKGFYPSDIAVENE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQSLSLIGK

Figura 37E**Cadena principal 9 de tipo abridor de botella**

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39166)

```

ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVVDHKPSDTKVDKTVERKCCVECP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVVDVKHEDDEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTTERVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPMNNYKTTPPMLDDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSYMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

```

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39167)

```

ERKCSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEVQTMWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTTERVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPAPIEKTISKTKGQPREPVYTLPPSREQMTKQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPMNNYKTTPPMLDDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSYMHEALHNHYTQKSLS
NHYTQKSLSLSPGK

```

Cadena principal 10 de tipo abridor de botella

Cadena pesada lateral de Fab (Id. de sec. n.º : 39168)

```

ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVVDHKPSDTKVDKTVERKCCVECP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVVDVKHEDDEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTTERVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPMNNYKTTPPMLDDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSYMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

```

Cadena pesada de scFv (Id. de sec. n.º : 39169)

```

ERKCSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMIISRTPEVTCVVVDVKHEDDEVQTMWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTTERVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPAPIEKTISKTKGQPREPVYTLPPSREQMTKQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPMNNYKTTPPMLDDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSYMHEALHNHYTQKSLS
NHYTQKSLSLSPGK

```

Figura 38A**Cadena principal 1 mAb-scFv (alotipo 356E/358M)**

Monómero 1 (Fab-Fc) (Id. de sec. n.º : 37737)

ASTKGPSVFLAPSSKSSTSGGTTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSNMGALTSGVHTFPAVLOSSGILYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTIKVDKKVEPKSCDKTHTCPFCAPP
 VAGPSVFLPPKPKDLMISRTPETCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLICDVSGFYPSDIAVEMESDGQOPENNYKTPPIVLDGSFFFLYSKLTVDSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Monómero 2 (Fab-Fc) (Id. de sec. n.º : 37738)

ASTKGPSVFLAPSSKSSTSGGTTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSNMGALTSGVHTFPAVLOSSGILYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTIKVDKKVEPKSSSDKTHTCPFCAPP
 VAGPSVFLPPKPKDLMISRTPETCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKGQPREPQVYT
 LPPSREQMTKNQVKLTCVKGFYPSDIAVEMESNGOPENNYKTPPIVLDGSFFFLYSKLTVDSRWEQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera constante (Id. de sec. n.º : 37739)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVWCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKRDSTYSLSSLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 38B**Cadena principal 2 mAb-scFv**

Fab-scFv-HC: alotipo 356D/358L (Id. de sec. n.º: 39170)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
 VAGPSVFLPPKPXDTLMISRTPETCVVVVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESEDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>Mab-scFv Fab-Hc - alotipo 356D/358L (Id. de sec. n.º: 39171)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
 VAGPSVFLPPKPXDTLMISRTPETCVVVVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESEDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena principal 3 mAb-scFv

>mAb-scFv Fab-scFv-HC-N297A (Id. de sec. n.º: 39172)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
 VAGPSVFLPPKPXDTLMISRTPETCVVVVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESEDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>Mab-scFv Fab-Hc - N297A (Id. de sec. n.º: 39173)

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
 VAGPSVFLPPKPXDTLMISRTPETCVVVVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVYT
 LPPSREQMTKNQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESEDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 38C**Cadena principal 4 mAb-scFv**

>mAb-scFv Fab-scFv-Hc - N297S (Id. de sec. n.º : 39174)

```
ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
VAGPSVFLPPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVGVEVHNAAKTKPREEEYSSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPREFQVYT
LPPSREEMTKNQVSLLTCDVGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQDVFTSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

>mAb-scFv Fab-Hc - N297S (Id. de sec. n.º : 39175)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
VAGPSVFLPPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVGVEVHNAAKTKPREEEYSSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPREFQVYT
LPPSREQMTKNQVSLLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGVFTSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

Cadena principal 5 mAb-scFv

>mAb-scFv Fab-scFv-19G4-Hc (Id. de sec. n.º : 39176)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
GPSVFLFPKPDKDILMISRTPEVTCVVVDVQKDPEVQFNWYVGVEVHNAAKTKPREEEFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREFQVYTLP
PSQEEMTKNQVSLLTCDVGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEGDDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

>mAb-scFv Fab-19G4-Hc (Id. de sec. n.º : 39177)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPP
GPSVFLFPKPDKDILMISRTPEVTCVVVDVQKDPEVQFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYRKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREFQVYTLP
PSQEQMTKNQVRLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFTSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

Figura 38D

Cadena principal 6 mAb-scFv

>mAb-scFv Fab-scFv-1gG2-Hc - sin S267K (Id. de sec. n.º : 39178)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSDLTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAG
PSVFLFPKPDKDTLMISRTPETVCKVVDVSHEDPEVQFNWYVHDGVEVHNAKTKPREEEFNSTRFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLP
SREEMTKNQVSLLTCDVSGFYPSDIAVEMESDGOPENNYKTTPPMLSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

>mAb-scFv Fab-1gG2-Hc - sin S267K (Id. de sec. n.º : 39179)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSDLTKVDKTVERKCSVECPCPAPPVAG
PSVFLFPKPDKDTLMISRTPETVCKVVDVSHEDPEVQFNWYVHDGVEVHNAKTKPREEEFNSTRFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLP
SREQMTKQVQLTCLVKGFYPSDIAVEMESNGOPENNYKTTPPMLSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

Cadena principal 7 mAb-scFv

>mAb-scFv Fab-scFv-1gG2-Hc - con S267K (Id. de sec. n.º : 39180)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSDLTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAG
PSVFLFPKPDKDTLMISRTPETVCKVVDVKHEDPEVQFNWYVHDGVEVHNAKTKPREEEFNSTRFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLP
SREEMTKNQVSLLTCDVSGFYPSDIAVEMESDGOPENNYKTTPPMLSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

>mAb-scFv Fab-1gG2-Hc - con S267K (Id. de sec. n.º : 39181)

```
ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSDLTKVDKTVERKCSVECPCPAPPVAG
PSVFLFPKPDKDTLMISRTPETVCKVVDVKHEDPEVQFNWYVHDGVEVHNAKTKPREEEFNSTRFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLP
SREQMTKQVQLTCLVKGFYPSDIAVEMESNGOPENNYKTTPPMLSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

Figura 39A**A**

1er/ 2do antígenos	PD-1	CTLA-4	TIM-3	LAG-3	TIGITO	BTLA
PD-1	XXX	A, B, C, D, E				
CTLA-4	A, B, C, D, F	XXX	A, B, C, D, F			
TIM-3	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	XXX	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G
LAG-3	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	XXX	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H
TIGITO	A, B, C, D, I	XXX	A, B, C, D, I			
BTLA	A, B, C, D, J	XXX				

Figura 39B**B**

1er/ 2do antígenos	PD-1	CTLA-4	TIM-3	LAG-3	TIGITO	BTLA
PD-1	XXX	A, B, C, D, E				
CTLA-4	A, B, C, D, F	XXX	A, B, C, D, F			
TIM-3	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	XXX	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G
LAG-3	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	XXX	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H
TIGITO	A, B, C, D, I	XXX	A, B, C, D, I			
BTLA	A, B, C, D, J	XXX				

Figura 40

1er/ 2do antígenos	PD-1	CTLA-4	TIM-3	LAG-3	TIGITO	BTLA
PD-1	-----	Q, R, S				
CTLA-4	Q, R, T	-----	Q, R, T	Q, R, T	Q, R, T	Q, R, T
TIM-3	Q, R, U	Q, R, U	-----	Q, R, U	Q, R, U	Q, R, U
LAG-3	Q, R, V	Q, R, V	Q, R, V	-----	Q, R, V	Q, R, V
TIGITO	Q, R, W	Q, R, W	Q, R, W	Q, R, W	-----	Q, R, W
BTLA	Q, R, X	-----				

Figura 41A

Célula tumoral

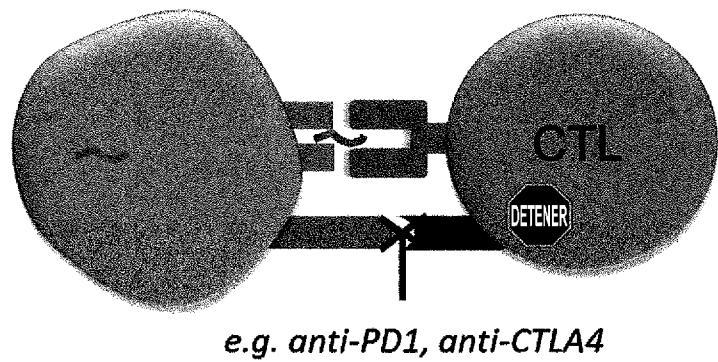


Figura 41B

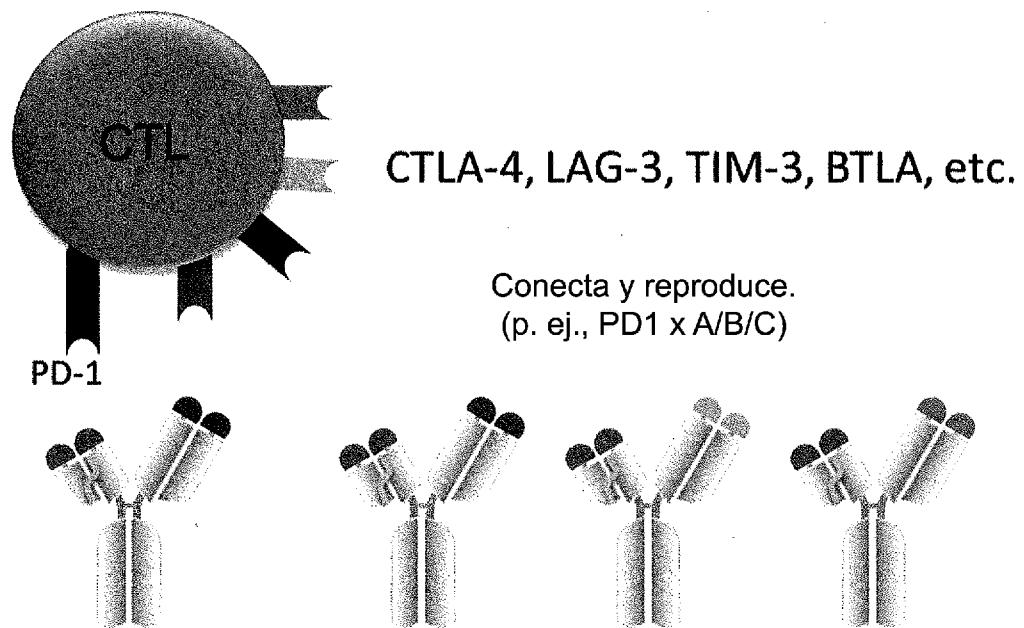


Figura 42

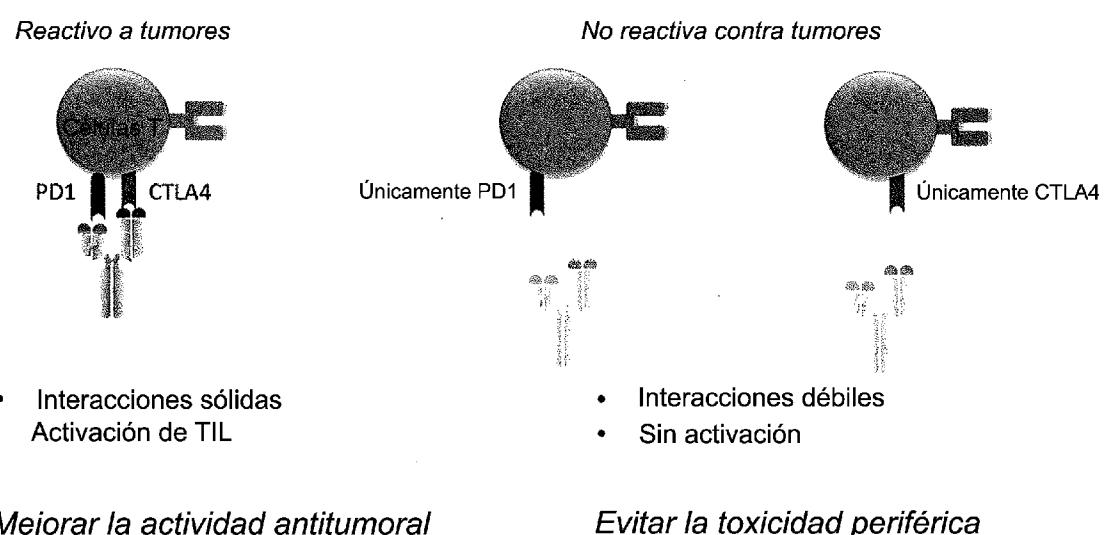


Figura 43

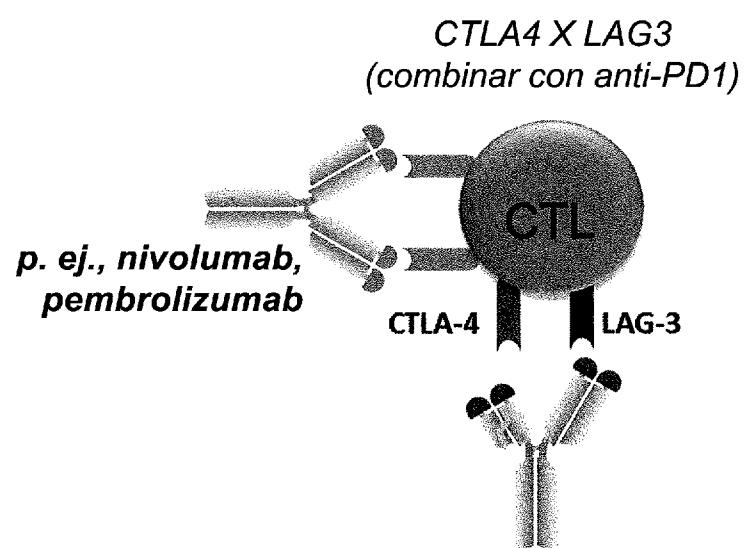


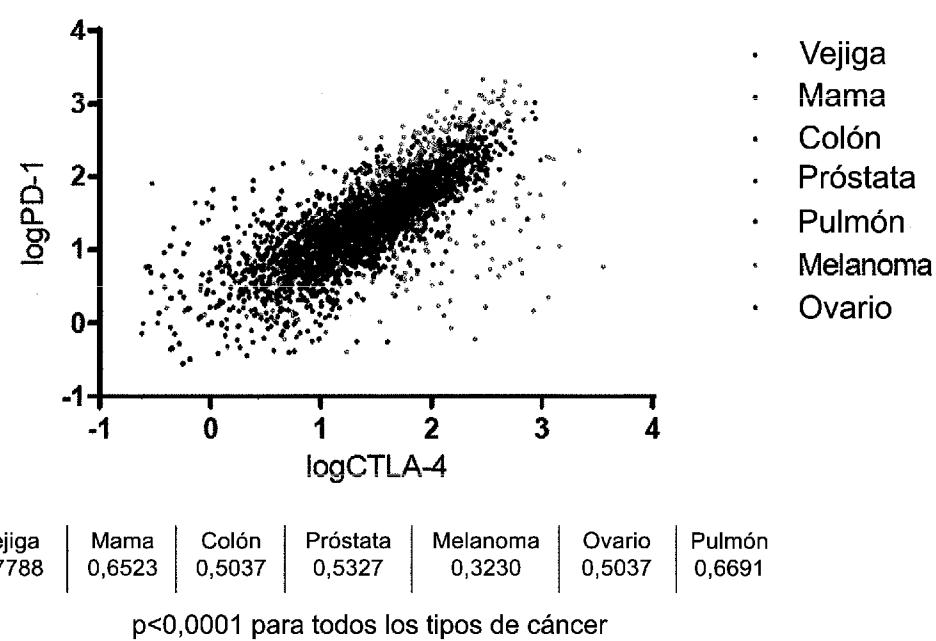
Figura 44

Figura 45A

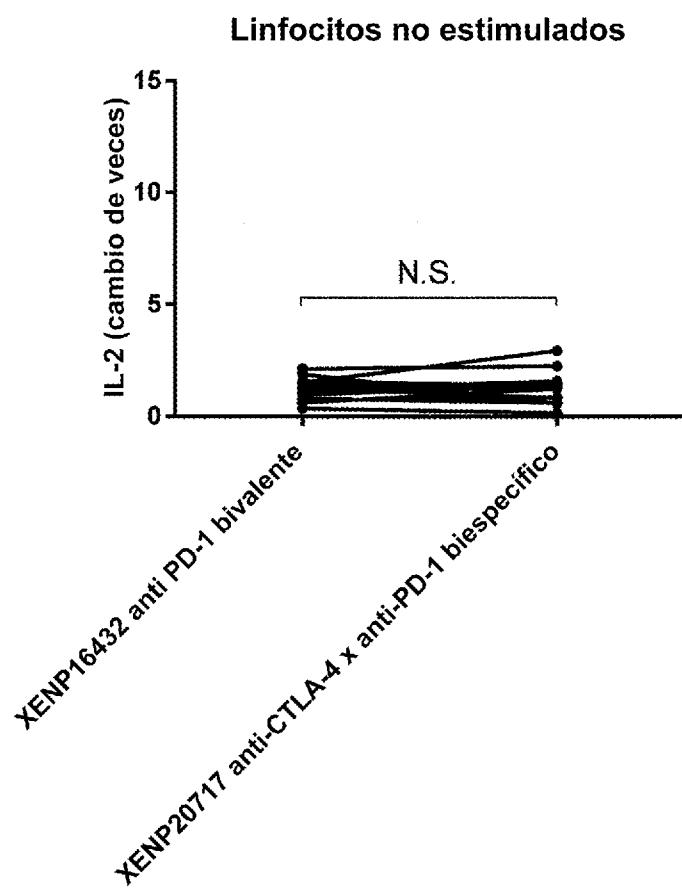


Figura 45B

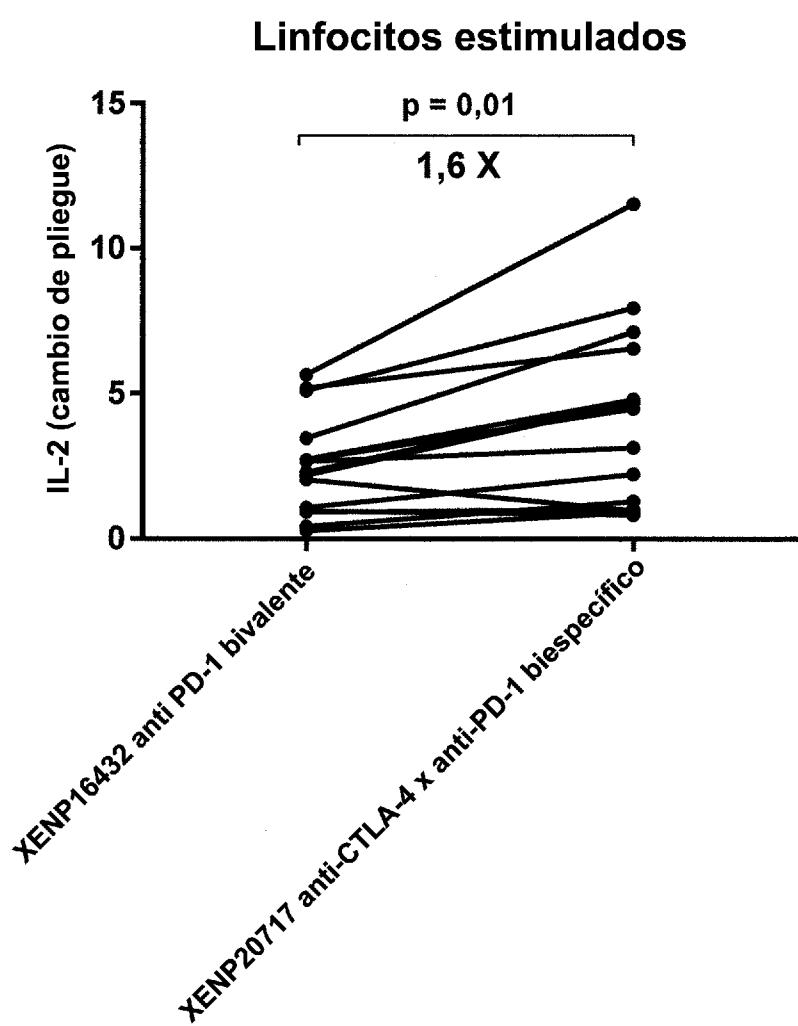


Figura 45C

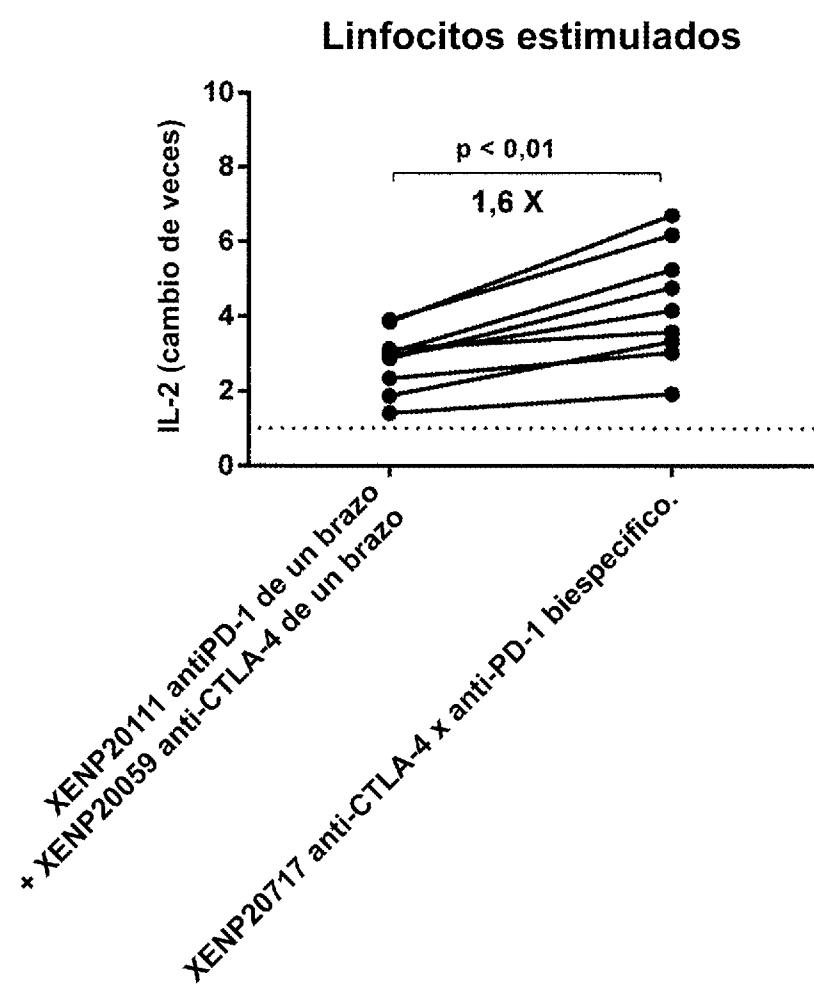


Figura 46A

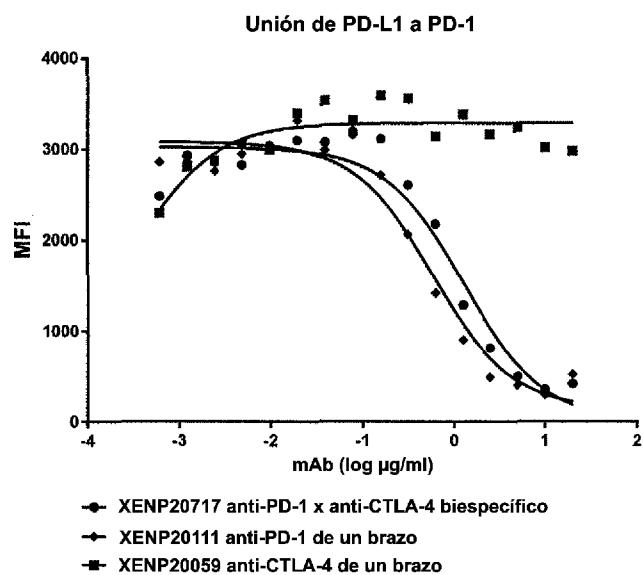


Figura 46B

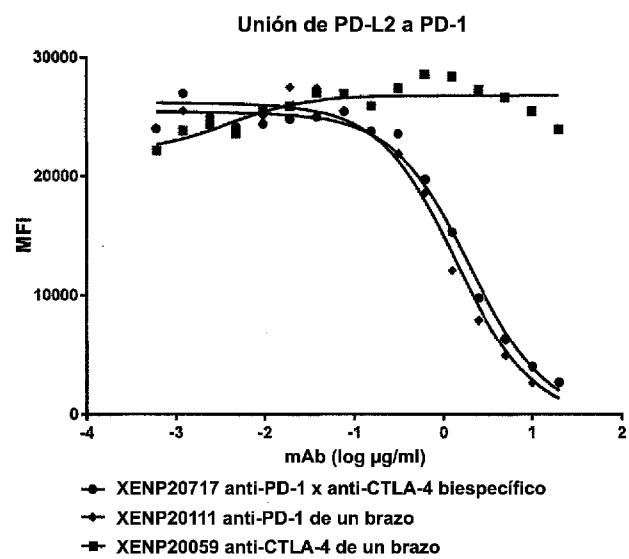


Figura 47

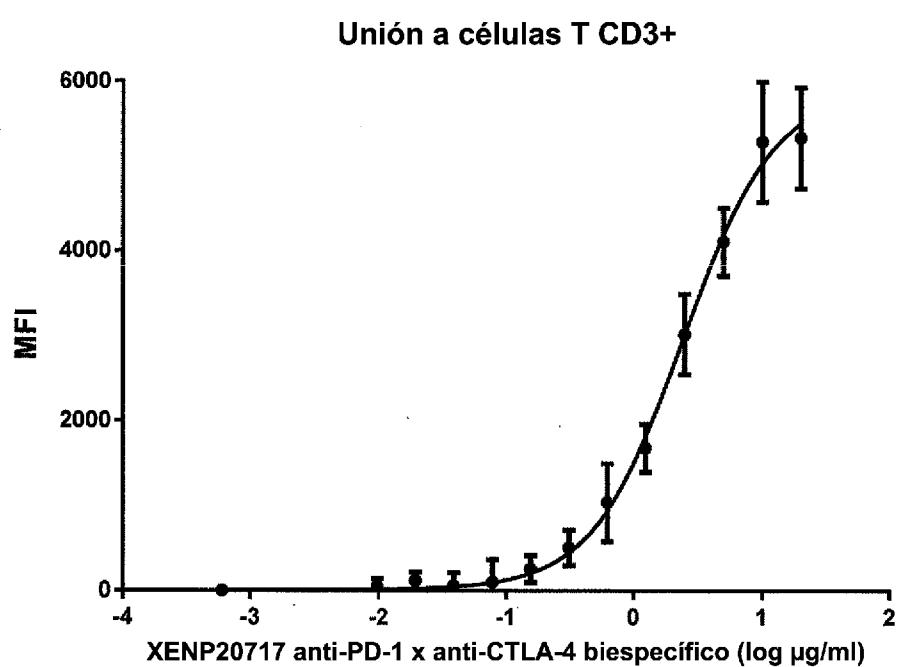


Figura 48

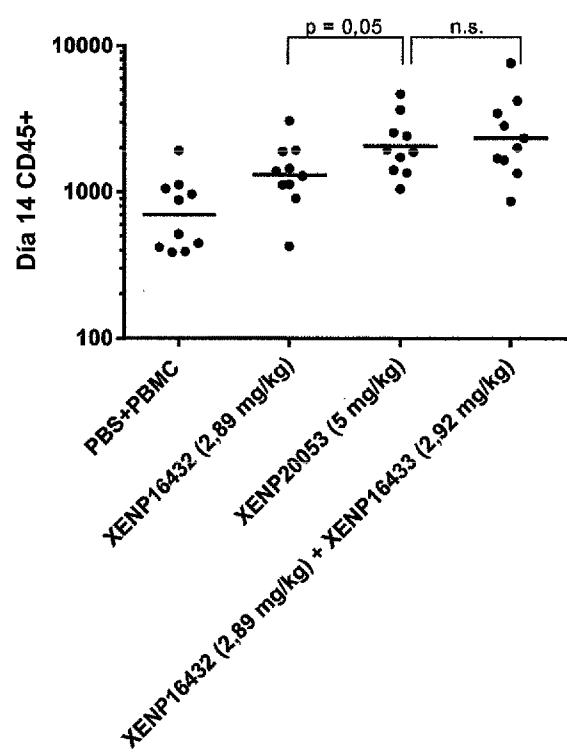


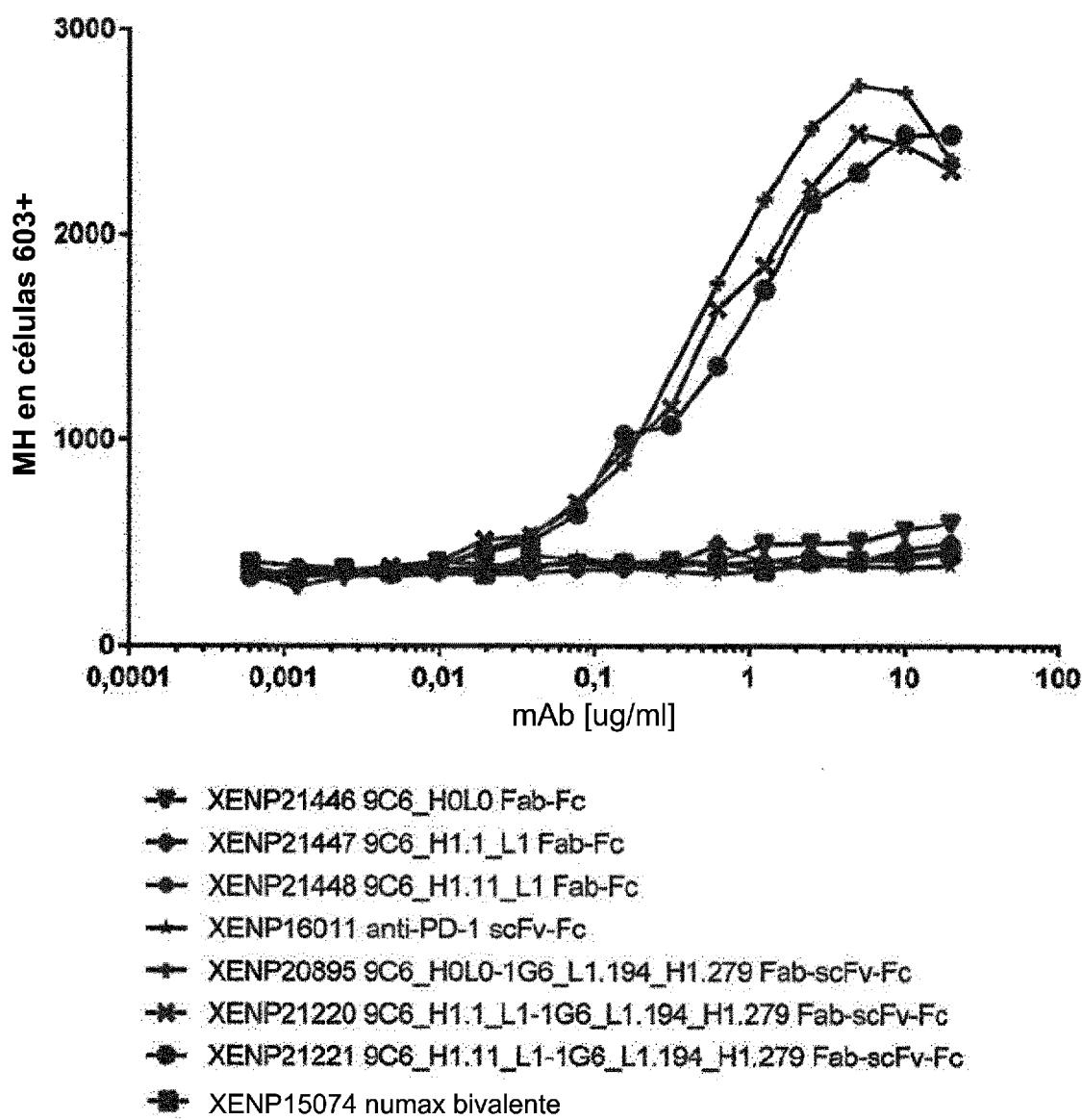
Figura 49

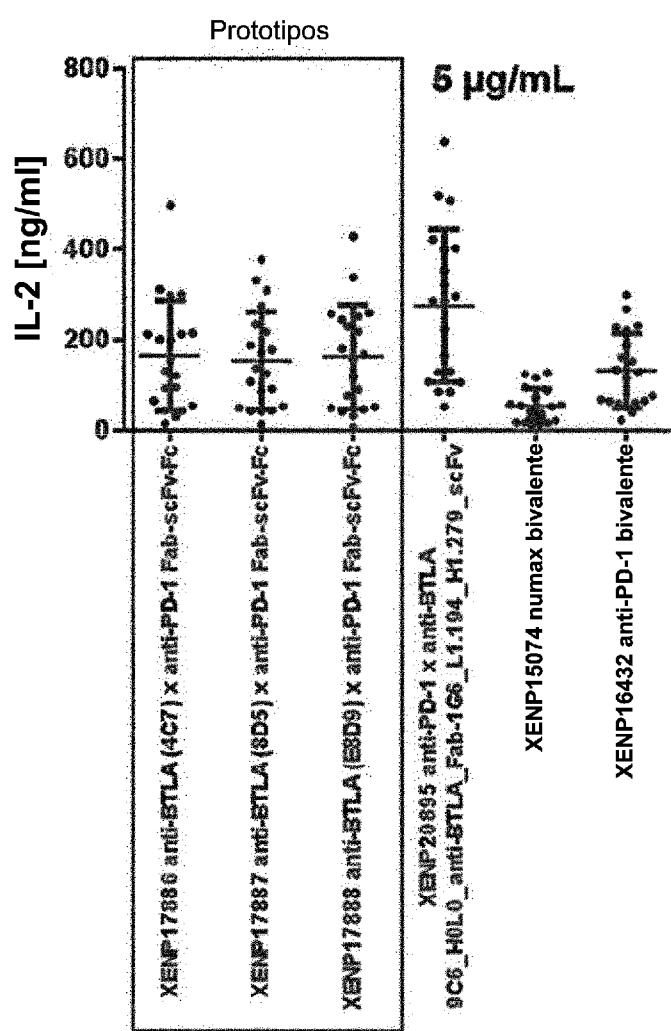
Figura 50A

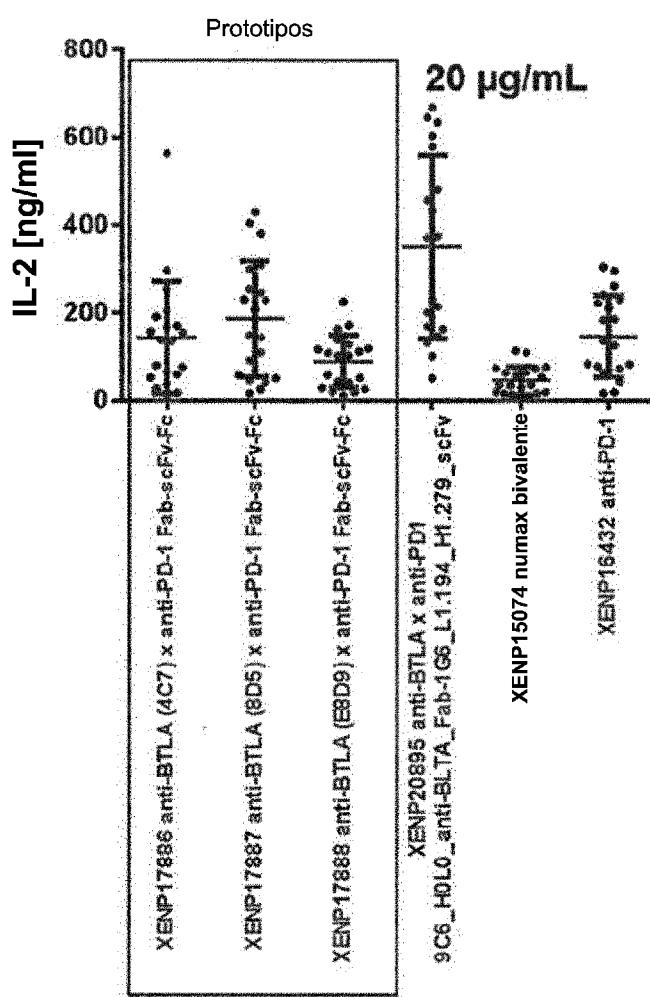
Figura 50B

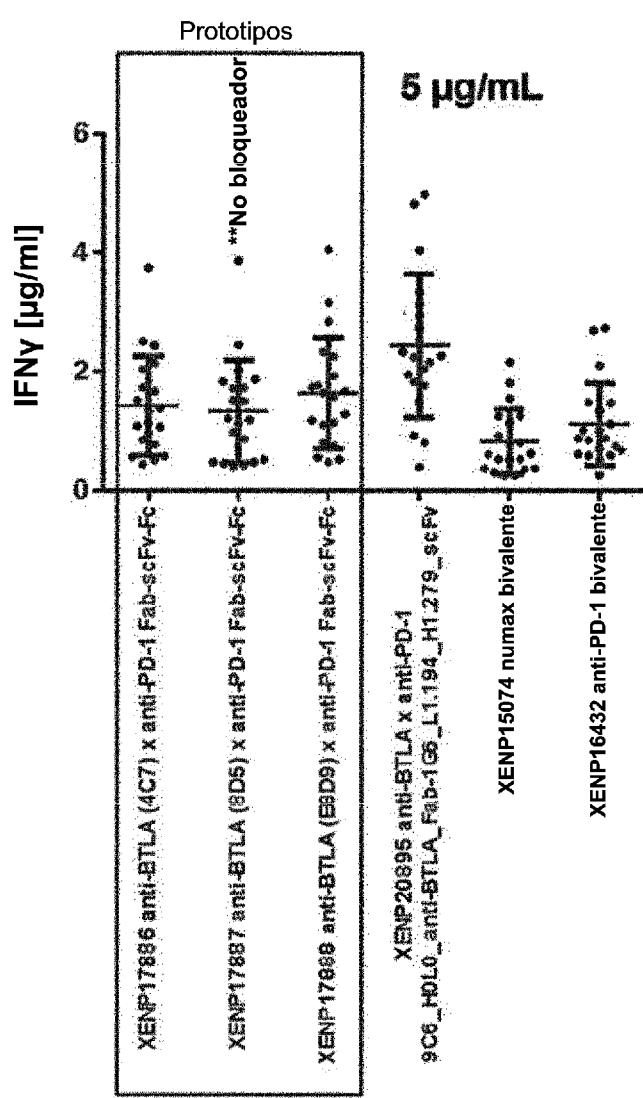
Figura 51A

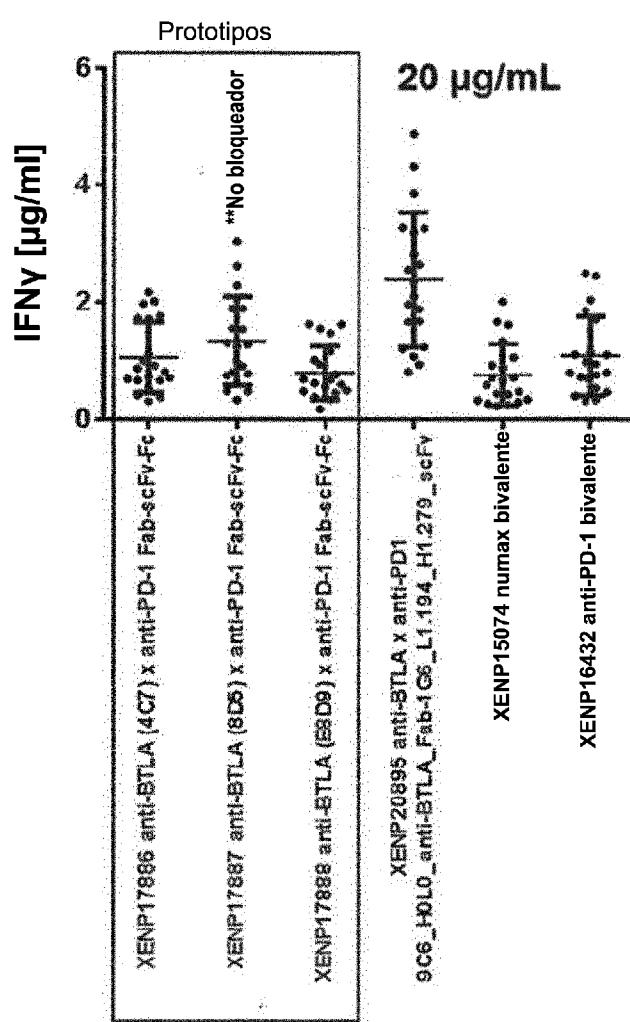
Figura 51B

Figura 52A

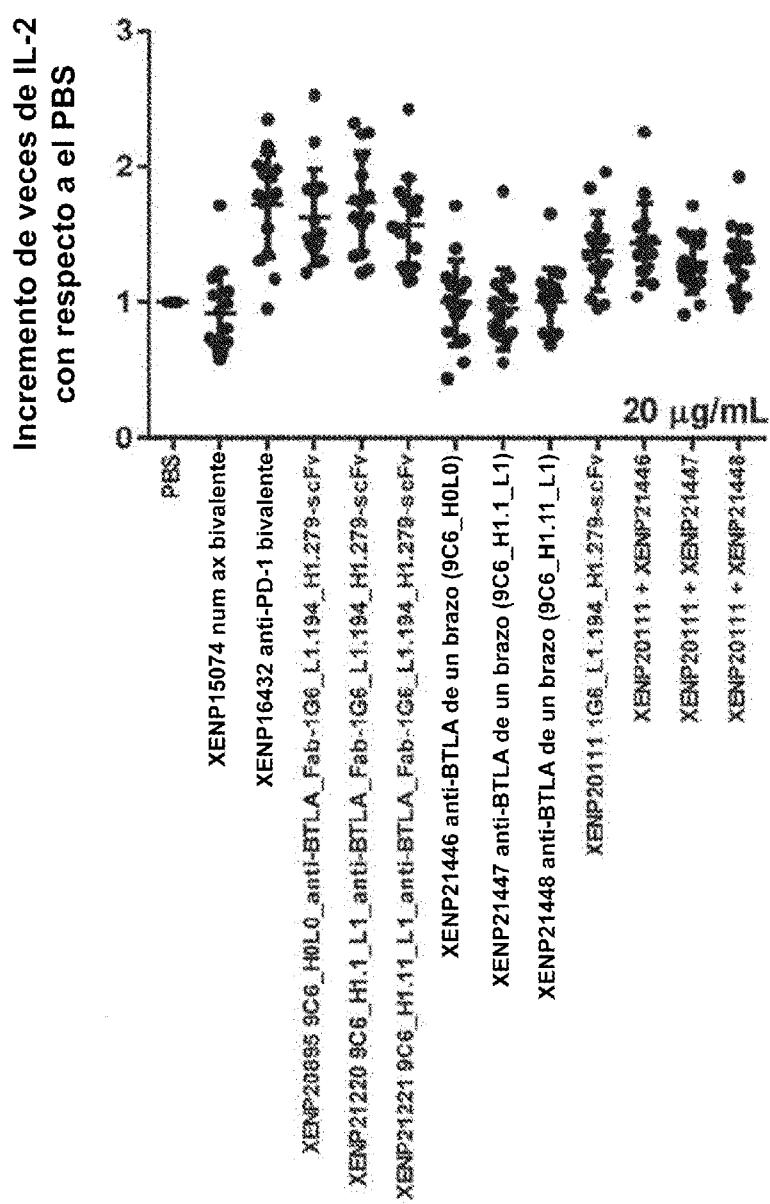


Figura 52B

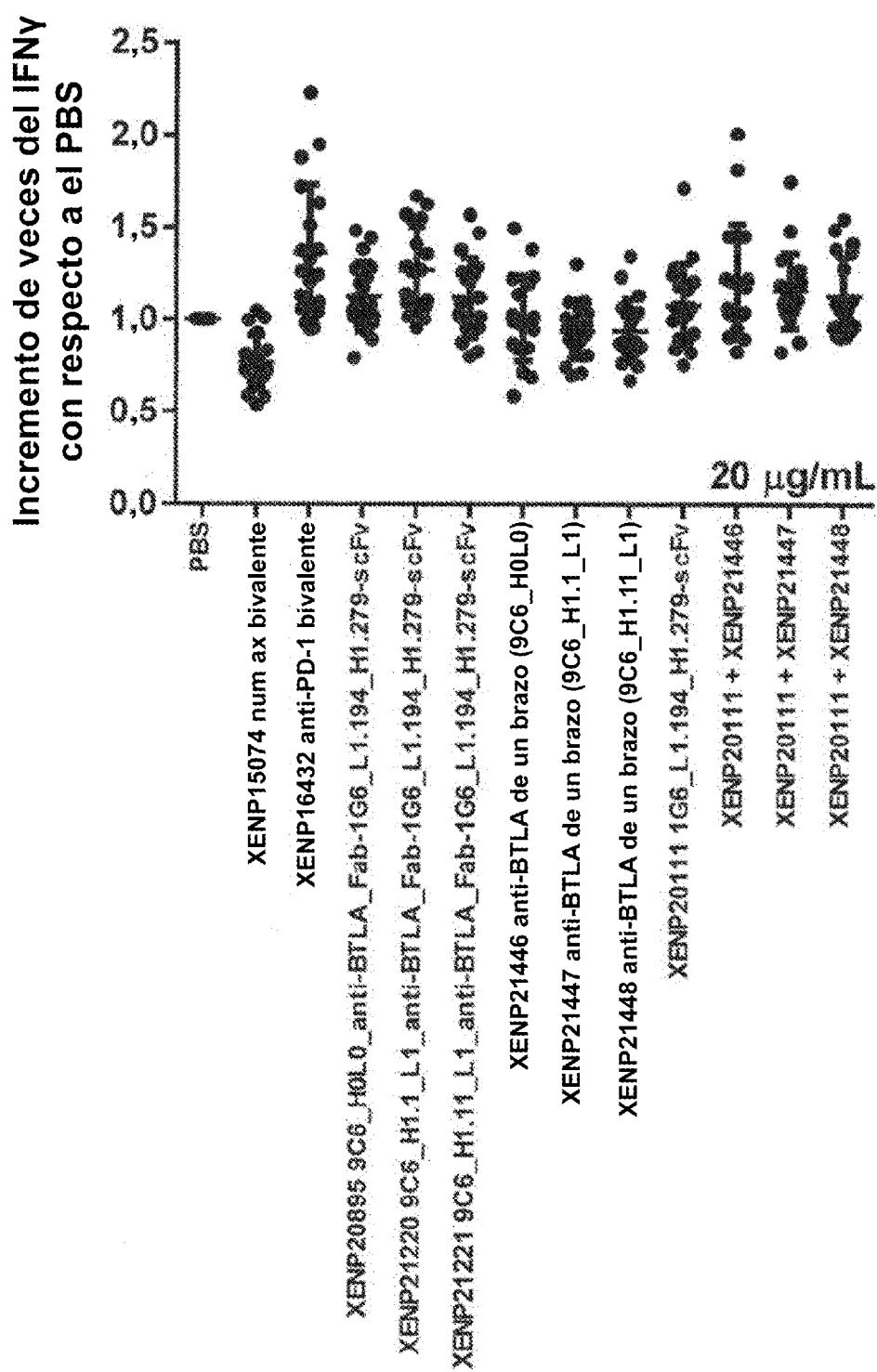


Figura 53A

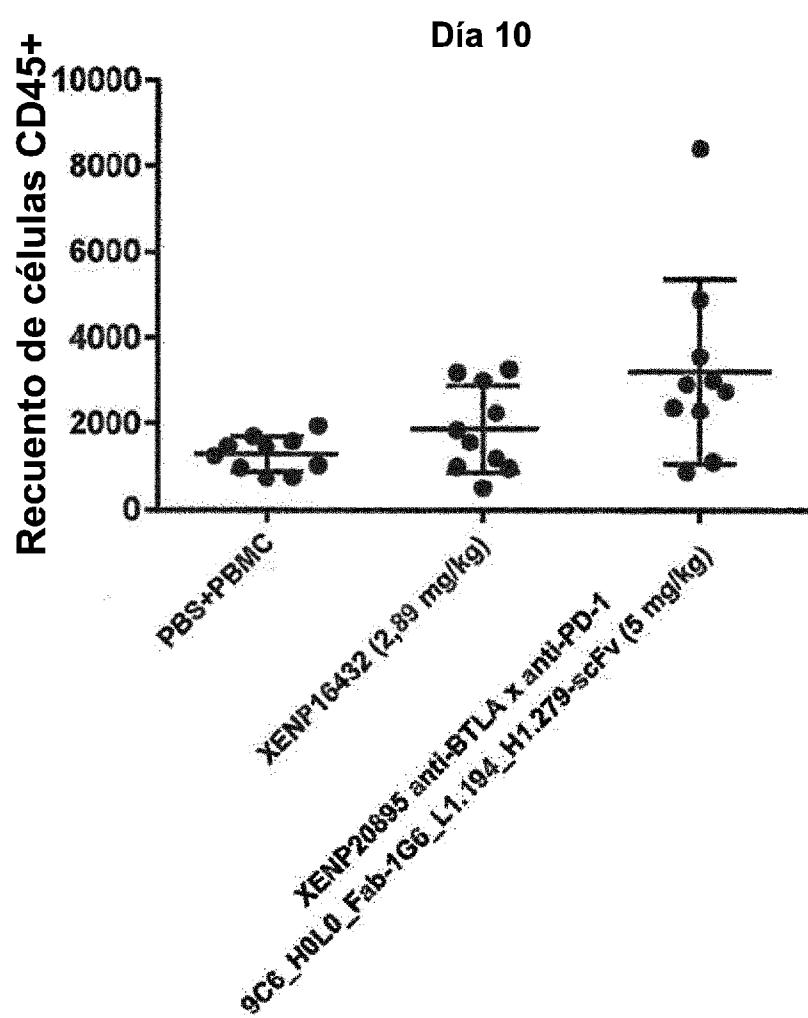


Figura 53B

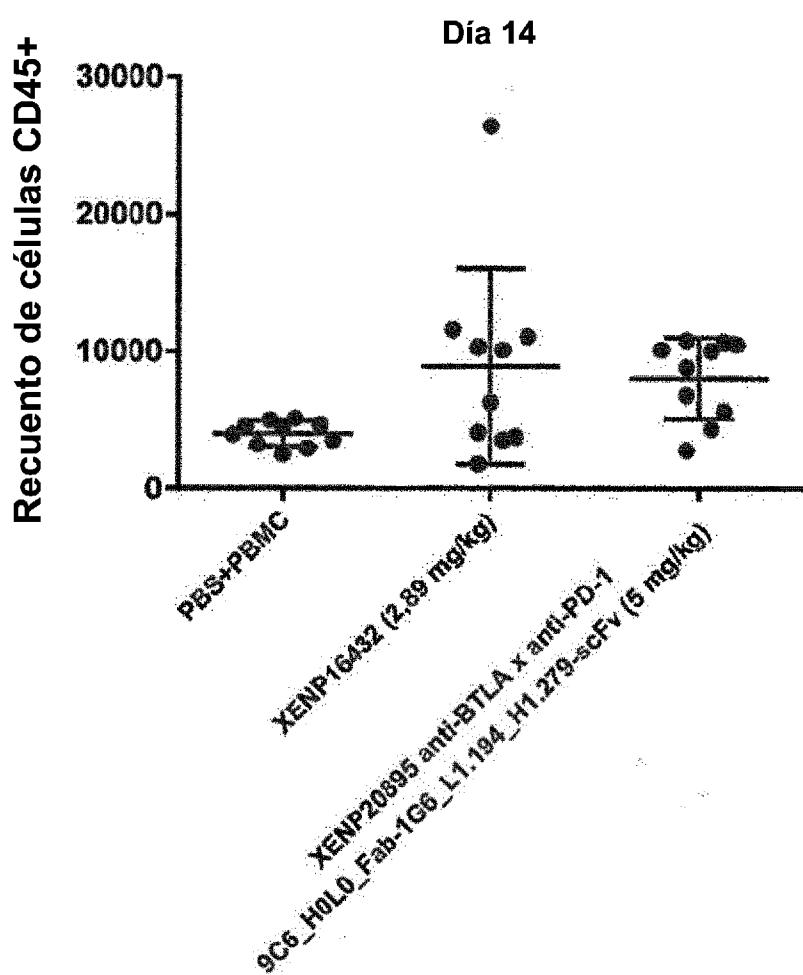


Figura 53C

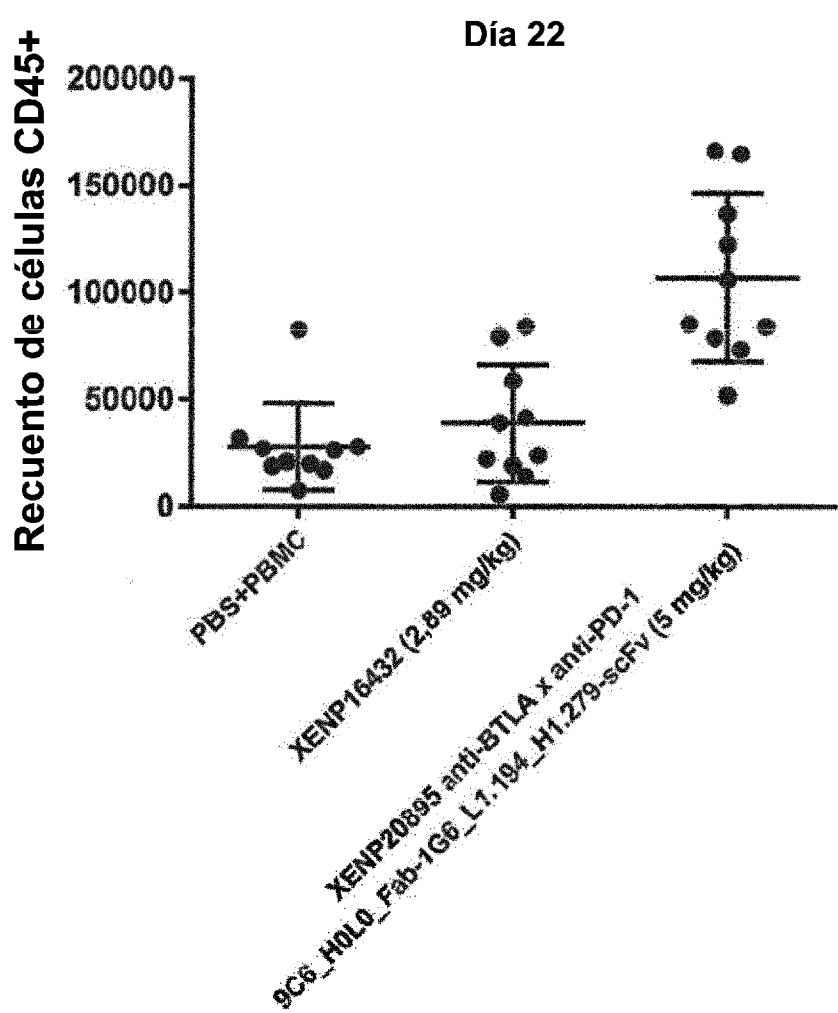


Figura 53D

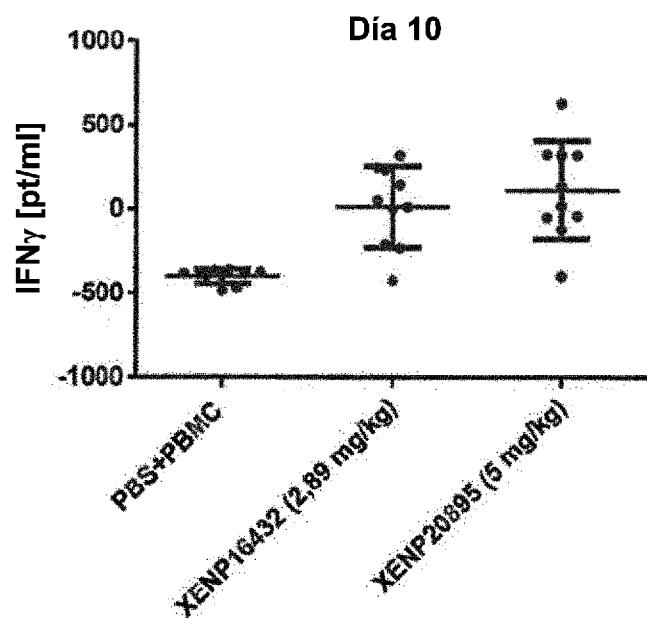


Figura 53E

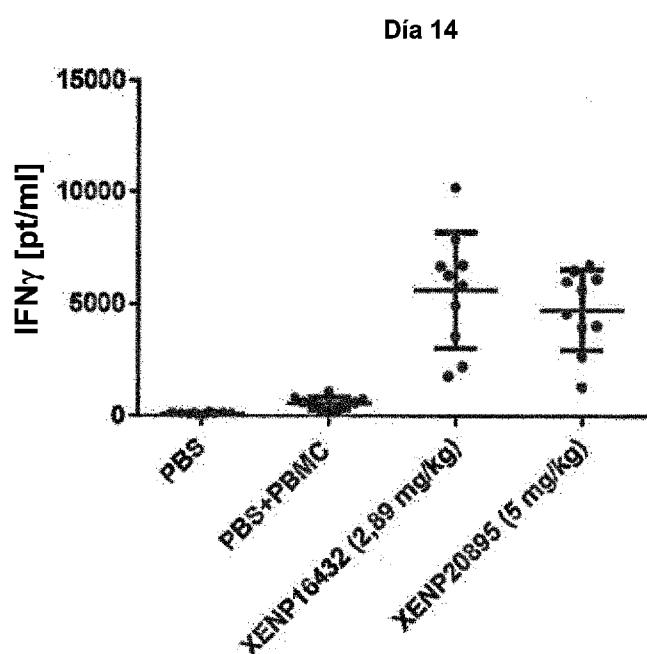


Figura 53F

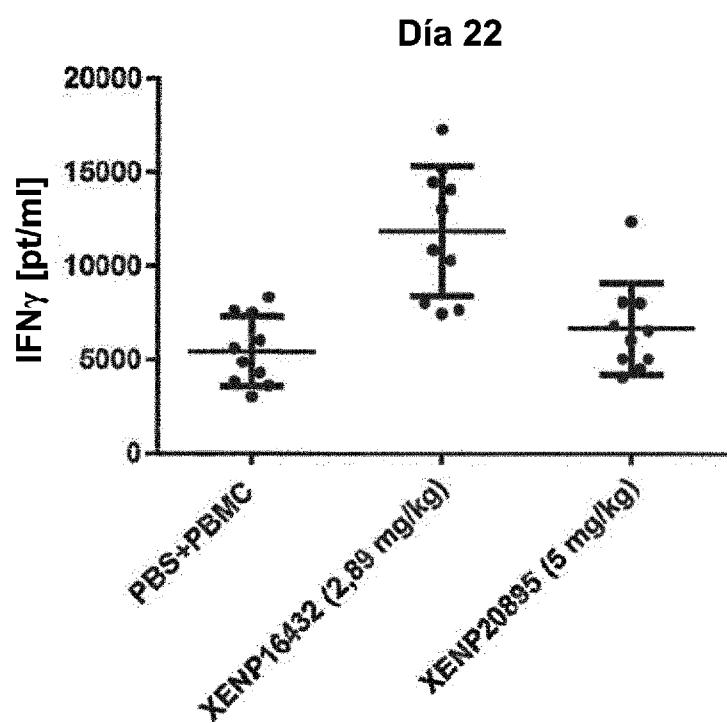


Figura 54

XENP (mAb bivalente)	Clon	VH	VL	KD(M; BTLA humano)
20269	9C6	H0	L0	1,3E-08
20744	9C6	H0	L1	1,4E-08
20745	9C6	H0	L2	1,9E-08
20746	9C6	H1	L0	1,8E-08
20747	9C6	H1	L1	2,7E-08
20748	9C6	H1	L2	4,2E-08
20749	9C6	H2	L0	2,1E-08
20750	9C6	H2	L1	3,7E-08
20751	9C6	H2	L2	5,1E-08
20752	9C6	H3	L0	2,3E-08
20753	9C6	H3	L1	3,2E-08
20754	9C6	H3	L2	3,1E-08
20872	9C6	H1.1	L1	2,4E-08
20873	9C6	H1.2	L1	3,8E-08
20874	9C6	H1.3	L1	5,0E-08
20875	9C6	H1.4	L1	4,5E-08
20876	9C6	H1.5	L1	4,7E-08
20877	9C6	H1.6	L1	4,6E-08
20878	9C6	H1.7	L1	4,5E-08
20879	9C6	H1.8	L1	4,7E-08
20880	9C6	H1.9	L1	3,5E-08
20881	9C6	H1.10	L1	5,1E-08
20882	9C6	H1.11	L1	2,2E-08
20883	9C6	H1.12	L1	3,4E-08
20884	9C6	H1.13	L1	3,0E-08
20885	9C6	H1.14	L1	3,4E-08
20886	9C6	H1.15	L1	3,4E-08
20887	9C6	H1.16	L1	3,7E-08
20888	9C6	H1	L1.1	3,1E-08
20889	9C6	H1	L1.2	3,0E-08
20890	9C6	H1	L1.3	3,2E-08
20891	9C6	H1	L1.4	3,1E-08
20892	9C6	H1	L1.5	3,1E-08
20893	9C6	H1	L1.6	3,4E-08
20894	9C6	H1	L1.7	6,2E-08

Figura 55A

Fab XENP	VH	VL	LAG-3 humano Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)
20847	H1	L2	1,37E-08	73,5
21228	H1.1	L2	1,43E-08	72,5
21232	H1.5	L2	1,73E-08	73
21235	H1.8	L2	1,15E-08	72,5
21236	H1.9	L2	1,26E-08	73
21239	H1.12	L2	1,25E-08	73,5
21245	H1.18	L2	1,27E-08	72,5
21249	H1.22	L2	9,50E-09	72,5
21256	H1.29	L2	1,30E-08	73,5
21264	H1.37	L2	3,60E-09	73
21284	H1.57	L2	2,36E-08	73,5
21286	H1.59	L2	3,61E-08	73,5
21291	H1.64	L2	6,71E-09	73
21292	H1.65	L2	7,08E-09	73
21295	H1.68	L2	1,31E-08	72,5
21301	H1.70	L2	5,47E-09	72,5
21302	H1.71	L2	1,25E-08	74,5
21304	H1.73	L2	1,63E-08	73,5
21306	H1.75	L2	1,69E-08	74
21327	H1.96	L2	1,93E-08	73,5
21329	H1.98	L2	1,11E-08	73,5
21332	H1.101	L2	1,43E-08	73,5
21336	H1.105	L2	5,41E-09	73
21339	H1.108	L2	1,29E-08	73,5
21342	H1.111	L2	1,18E-08	73,5
21344	H1.113	L2	1,16E-08	73
21351	H1	L2.4	1,07E-08	71,5
21353	H1	L2.6	1,68E-08	70,5
21360	H1	L2.13	1,17E-08	74
21369	H1	L2.22	1,74E-08	71
21370	H1	L2.23	9,74E-09	73
21371	H1	L2.24	1,80E-08	73
21382	H1	L2.35	5,44E-09	73
21392	H1	L2.45	5,09E-09	72
21394	H1	L2.47	3,40E-09	73,5
21395	H1	L2.48	8,27E-09	72
21401	H1	L2.50	2,30E-09	73,5
21402	H1	L2.51	8,47E-09	73
21409	H1	L2.58	3,11E-09	77

Figura 55B

Fab XENP	VH	VL	LAG-3 humano Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)
21411	H1	L2.60	1,46E-08	75
21421	H1	L2.70	6,58E-09	74
21423	H1	L2.72	1,15E-08	73
21424	H1	L2.73	7,68E-09	74
21426	H1	L2.75	1,61E-08	74,5
21609	H1.64	L2.35	1,16E-08	
21610	H1.64	L2.47	3,30E-09	
21611	H1.64	L2.50	2,34E-09	
21612	H1.70	L2.35	1,30E-08	
21613	H1.70	L2.47	6,29E-09	
21614	H1.70	L2.50	6,48E-09	
21615	H1.105	L2.35	5,82E-09	
21616	H1.105	L2.47	3,62E-09	
21617	H1.105	L2.50	2,02E-09	
21705	H.117	L2	2,90E-09	
21706	H.118	L2	4,06E-09	
21707	H.119	L2	7,72E-09	
21708	H.120	L2	8,48E-09	
21709	H.121	L2	3,19E-09	
21710	H.122	L2	4,54E-09	
21711	H.123	L2	7,63E-09	
21712	H.124	L2	1,08E-08	
21713	H.126	L2	1,63E-09	
21714	H.128	L2	5,70E-09	
21715	H.129	L2	1,16E-08	
21716	H.130	L2	9,43E-09	
21717	H.131	L2	1,63E-08	
21718	H.132	L2	2,12E-08	
21719	H.133	L2	1,60E-08	
21720	H.134	L2	2,45E-08	
21721	H.135	L2	5,71E-09	
21722	H.136	L2	3,03E-09	
21723	H.137	L2	7,26E-09	
21724	H.138	L2	8,29E-09	
21725	H.139	L2	7,00E-09	
21726	H.140	L2	1,03E-08	
21727	H.141	L2	4,74E-09	
21728	H.142	L2	1,61E-06	
21729	H.143	L2	4,70E-09	

Figura 55C

Fab XENP	VH	VL	LAG-3 humano Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)
21730	H.144	L2	1,64E-09	
21731	H.145	L2	5,19E-09	
21732	H.146	L2	2,95E-09	
21794	H1.125	L2	8,13E-10	
21795	H1.127	L2	2,36E-09	
21796	H1	L2.102	1,21E-08	
21801	H1	L2.103	3,22E-08	
21802	H1	L2.104	2,09E-07	
21803	H1	L2.105	8,35E-08	
21804	H1	L2.106	1,43E-07	
21805	H1	L2.107		
21806	H1	L2.108		
21807	H1	L2.109	1,68E-08	
21808	H1	L2.110		
21809	H1	L2.111	2,24E-09	
21810	H1	L2.112	3,26E-09	
21811	H1	L2.113	1,29E-09	
21812	H1	L2.114	2,79E-09	
21813	H1	L2.115	6,06E-09	
21814	H1	L2.116	1,58E-09	
21815	H1	L2.117		
21816	H1	L2.118	1,13E-08	
21817	H1	L2.119	3,99E-09	
21818	H1	L2.120	2,90E-09	
21819	H1	L2.121	1,12E-08	
21912	H1.117	L2.50		
21913	H1.125	L2.50	1,75E-10	
21914	H1.126	L2.50	2,75E-10	
21915	H1.144	L2.50	4,63E-10	
21916	H1.127	L2.50	5,28E-10	
21917	H1.136	L2.50	5,12E-10	
21918	H1.154	L2.50	9,22E-10	
21919	H1.141	L2.50	1,71E-09	
21920	H1.117	L2.113	7,96E-10	
21921	H1.125	L2.113	1,38E-10	
21922	H1.126	L2.113	3,96E-10	
21923	H1.144	L2.113	2,84E-10	
21924	H1.127	L2.113	5,20E-10	
21925	H1.136	L2.113	3,08E-10	

Figura 55D

Fab XENP	VH	VL	LAG-3 humano Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)
21926	H1.154	L2.113	9,08E-10	
21927	H1.141	L2.113	5,63E-10	
21928	H1.117	L2.116	3,23E-10	
21929	H1.125	L2.116	3,64E-10	
21930	H1.126	L2.116	9,37E-10	
21931	H1.144	L2.116	9,74E-10	
21932	H1.127	L2.116	1,66E-09	
21933	H1.136	L2.116	1,31E-09	
21934	H1.154	L2.116	3,58E-09	
21935	H1.141	L2.116	2,16E-09	
21915	H1.144	L2.50	7,66E-10	
21923	H1.144	L2.113	7,31E-10	
22138	H1.158	L2.126	1,58E-07	
22139	H1.159	L2.126	2,12E-07	
22140	H1.160	L2.126	1,70E-07	
22141	H1.161	L2.126	8,77E-08	
22142	H1.162	L2.126	1,20E-07	
22143	H1.163	L2.126	4,62E-07	
22144	H1.164	L2.126	3,46E-07	
22145	H1.165	L2.126	2,01E-07	
22146	H1.166	L2.126	2,59E-07	
22147	H1.167	L2.126	4,12E-08	
22148	H1.168	L2.126	3,43E-07	
22149	H1.169	L2.126	3,24E-07	
22453	H1.144	L2.131	2,00E-09	
22454	H1.167	L2.128	3,00E-07	
22455	H1.167	L2.129	1,68E-06	
22456	H1.167	L2.130	2,64E-07	
22457	H1.167	L2.131	3,76E-07	
22461	H1.125	L2.131	1,67E-09	
22450	H1.144	L2.128	2,55E-09	67
22451	H1.144	L2.129	4,26E-09	67,5
22452	H1.144	L2.130	4,95E-09	68,5
22458	H1.125	L2.128	2,24E-09	65
22459	H1.125	L2.129	5,64E-09	67
22460	H1.125	L2.130	3,21E-09	67
22570	H1.144	L2.132	2,44E-09	66,5
22571	H1.144	L2.133	4,71E-09	67
22572	H1.144	L2.134	5,54E-09	69

Figura 55E

Fab XENP	VH	VL	LAG-3 humano Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)
22574	H1.125	L2.132	1,98E-09	65,5
22575	H1.125	L2.133	3,19E-09	65
22578	H1.141	L2.132	2,93E-12	66,5
22579	H1.141	L2.133	9,21E-09	68
22580	H1.141	L2.134	4,12E-09	69,5
22609	H1.144	L2.136	4,60E-09	67,5
22610	H1.125	L2.136	3,81E-09	66
22611	H1.141	L2.136	4,30E-09	68
22612	H1.144	L2.137	2,03E-08	
22613	H1.125	L2.137	5,09E-09	66
22614	H1.141	L2.137	7,35E-09	68,5
22576	H1.125	L2.134	3,46E-09	66,5
22615	H1.144	L2.126	2,69E-09	
22616	H1.144	L2.91	1,26E-08	74
22617	H1.144	L2.93	8,31E-09	72,5
22618	H1.144	L2.122	9,12E-09	74,5
22619	H1.144	L2.124	1,03E-08	73,5
22620	H1.125	L2.126	1,20E-09	64
22621	H1.125	L2.91	5,96E-09	73,5
22622	H1.125	L2.93	5,81E-09	72
22623	H1.125	L2.122	6,81E-09	73
22624	H1.125	L2.124	7,00E-09	73
22652	H1.144	L2.138	1,32E-09	74
22653	H1.144	L2.139	2,41E-09	
22654	H1.144	L2.140	2,89E-09	
22655	H1.144	L2.141	3,65E-09	
22656	H1.144	L2.142	1,29E-09	74
22657	H1.144	L2.143	3,33E-09	
22658	H1.144	L2.144	3,04E-09	
22659	H1.144	L2.145	3,43E-09	
22660	H1.125	L2.138	9,29E-10	73,5
22661	H1.125	L2.139	2,34E-09	
22662	H1.125	L2.140	2,24E-09	73,5
22663	H1.125	L2.141	2,41E-09	73
22664	H1.125	L2.142	3,62E-10	73,5
22665	H1.125	L2.143	2,74E-09	
22666	H1.125	L2.144	2,58E-09	
22667	H1.125	L2.145	2,70E-09	

ES 2 995 596 T3

Figura 56A

Figura V

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
20844	7G8	H3	L1	4,84E-08	3,51E-02	59.0
20911	7G8	H3.1	L1	2,13E-08	6,47E-03	
20912	7G8	H3.2	L1	5,51E-08	1,22E-02	
20913	7G8	H3.3	L1	2,16E-08	7,75E-03	
20914	7G8	H3.4	L1	1,64E-08	7,57E-03	
20915	7G8	H3.5	L1	8,38E-08	3,72E-03	
20916	7G8	H3.6	L1	6,50E-08	1,90E-02	
20917	7G8	H3.8	L1	1,62E-08	8,26E-03	
20918	7G8	H3	L1.1	8,19E-08	2,45E-02	
20919	7G8	H3	L1.2	Débil	Débil	
20920	7G8	H3	L1.3	Débil	Débil	
20921	7G8	H3	L1.4	8,16E-08	2,17E-02	
20922	7G8	H3	L1.5	Débil	Débil	
20923	7G8	H3	L1.6	4,42E-06	3,89E-02	
20924	7G8	H3	L1.8	6,43E-08	1,41E-02	
20925	7G8	H3.1	L1.1	4,31E-08	5,78E-03	
20926	7G8	H3.1	L1.5	5,26E-08	5,85E-03	
20927	7G8	H3.5	L1.1	1,61E-06	7,44E-03	
20928	7G8	H3.5	L1.5	7,31E-08	6,77E-03	
20929	7G8	H3	L0	4,17E-08	3,08E-02	
20930	7G8	H0	L0	6,59E-08	6,10E-02	
20931	7G8	H1	L0	1,09E-07	3,18E-02	
20932	7G8	H2	L0	8,33E-08	6,28E-02	
20933	7G8	H0.1	L0	2,44E-08	2,70E-02	
20934	7G8	H0.2	L0	2,11E-08	2,05E-02	
20935	7G8	H0.3	L0	3,07E-08	1,43E-02	
20936	7G8	H0.4	L0	3,55E-08	3,29E-02	
20937	7G8	H0.5	L0	5,33E-08	3,46E-02	
20938	7G8	H0.6	L0	1,86E-08	2,48E-02	
20939	7G8	H0.7	L0	7,57E-08	9,20E-02	
20940	7G8	H0.8	L0	2,24E-08	3,65E-02	
20941	7G8	H0.9	L0	7,91E-08	1,16E-01	
20942	7G8	H0.10	L0	1,08E-07	1,05E-01	
20943	7G8	H0.11	L0	8,29E-08	1,15E-01	
20944	7G8	H0.12	L0	1,19E-06	3,47E-01	
20945	7G8	H0.13	L0	9,61E-08	1,03E-01	
20946	7G8	H0.14	L0	1,85E-07	2,53E-01	
20947	7G8	H0.15	L0	7,88E-08	1,99E-01	

ES 2 995 596 T3

Figura 56B

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
20948	TG8	H0.17	L0	4,14E-08	5,74E-02	
20949	TG8	H0.18	L0	3,74E-08	4,05E-02	
20950	TG8	H0.19	L0	3,85E-08	3,85E-02	
20951	TG8	H0.20	L0	7,09E-08	9,98E-02	
20952	TG8	H0.21	L0	6,30E-08	3,75E-02	
20953	TG8	H0.22	L0	9,92E-08	5,17E-02	
20954	TG8	H0.23	L0	4,49E-08	2,71E-02	
20955	TG8	H0.24	L0	Débil	Débil	
20956	TG8	H0.25	L0	9,22E-08	6,99E-02	
20957	TG8	H0.26	L0	1,09E-07	1,18E-01	
20958	TG8	H0.27	L0	3,45E-08	5,35E-02	
20959	TG8	H0.28	L0	5,30E-08	5,63E-02	
20960	TG8	H0.29	L0	6,01E-08	4,73E-02	
20961	TG8	H0.30	L0	2,31E-08	2,00E-02	
20962	TG8	H0.31	L0	1,05E-08	1,29E-02	
20963	TG8	H0.32	L0	6,80E-08	5,77E-02	
20964	TG8	H0.33	L0	6,46E-08	1,61E-02	
20965	TG8	H0.34	L0	3,29E-08	1,77E-02	
20966	TG8	H0.35	L0	8,17E-08	1,70E-02	
20967	TG8	H0.36	L0	3,61E-07	1,49E-01	
20968	TG8	H0.37	L0	8,90E-08	1,33E-01	
20969	TG8	H0.38	L0	1,00E-07	1,66E-01	
20970	TG8	H0.39	L0	1,19E-07	1,62E-01	
20971	TG8	H0.40	L0	2,45E-07	1,49E-01	
20972	TG8	H0.41	L0	6,40E-08	1,48E-01	
20973	TG8	H0.42	L0	5,41E-08	1,17E-01	
20974	TG8	H0.43	L0	1,30E-06	4,23E-01	
20975	TG8	H0.44	L0	5,03E-07	2,47E-01	
20976	TG8	H0.45	L0	3,41E-08	5,79E-02	
20977	TG8	H0.46	L0	2,45E-08	4,35E-02	
20978	TG8	H0.47	L0	3,94E-08	3,73E-02	
20979	TG8	H0.48	L0	3,16E-08	3,07E-02	
20980	TG8	H0.49	L0	2,89E-08	2,66E-02	
20981	TG8	H0.50	L0	2,70E-08	2,71E-02	
20982	TG8	H0.51	L0	3,12E-08	3,57E-02	
20983	TG8	H0.52	L0	3,38E-08	2,95E-02	
20984	TG8	H0.53	L0	3,05E-08	2,31E-02	
20985	TG8	H0.54	L0	6,81E-08	5,02E-02	

ES 2 995 596 T3

Figura 56C

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
20986	TG8	H0.55	L0	4,72E-08	4,53E-02	
20987	TG8	H0.56	L0	1,37E-07	1,06E-01	
20988	TG8	H0.57	L0	5,69E-08	4,86E-02	
20989	TG8	H0.58	L0	6,58E-08	6,12E-02	
20990	TG8	H0.59	L0	3,52E-07	8,60E-02	
20991	TG8	H0.60	L0	7,59E-08	6,07E-02	
20992	TG8	H0.61	L0	1,86E-06	2,22E-01	
20993	TG8	H0.62	L0	3,12E-08	3,17E-02	
20994	TG8	H0.63	L0	2,50E-07	1,67E-01	
20995	TG8	H0.64	L0	9,55E-08	6,47E-02	
20996	TG8	H0.65	L0	1,53E-06	2,43E-01	
21001	TG8	H0.66	L0	3,19E-06	1,47E-01	
21002	TG8	H0.67	L0	1,12E-06	3,70E-01	
21003	TG8	H0.68	L0	7,10E-06	3,57E-01	
21004	TG8	H0.69	L0	1,34E-07	1,39E-01	
21005	TG8	H0.70	L0	1,45E-07	8,55E-02	
21006	TG8	H0.71	L0	2,35E-08	2,46E-02	
21007	TG8	H0.72	L0	4,36E-08	4,93E-02	
21008	TG8	H0.73	L0	1,57E-07	8,04E-02	
21009	TG8	H0.74	L0	6,39E-08	5,12E-02	
21010	TG8	H0.75	L0	9,21E-08	8,34E-02	
21011	TG8	H0.76	L0	5,84E-08	8,50E-02	
21012	TG8	H0.77	L0	1,07E-07	6,84E-02	
21013	TG8	H0.78	L0	1,56E-07	9,33E-02	
21014	TG8	H0.79	L0	5,11E-08	5,02E-02	
21015	TG8	H0.80	L0	1,11E-07	6,42E-02	
21016	TG8	H0.81	L0	6,41E-08	7,22E-02	
21017	TG8	H0.82	L0	1,08E-07	1,12E-01	
21018	TG8	H0.83	L0	3,88E-08	5,32E-02	
21019	TG8	H0.84	L0	1,04E-07	1,06E-01	
21020	TG8	H0.85	L0	5,13E-08	5,55E-02	
21021	TG8	H0.86	L0	8,11E-08	8,50E-02	
21022	TG8	H0.87	L0	1,61E-07	1,14E-01	
21023	TG8	H0.88	L0	8,22E-08	9,43E-02	
21024	TG8	H0.89	L0	6,36E-08	9,23E-02	
21025	TG8	H0.90	L0	6,07E-08	6,79E-02	
21026	TG8	H0.91	L0	8,91E-08	9,16E-02	
21027	TG8	H0.92	L0	7,61E-08	7,27E-02	

ES 2 995 596 T3

Figura 56D

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21028	TG8	H0.93	L0	6,69E-08	6,88E-02	
21029	TG8	H0.94	L0	9,67E-08	2,04E-01	
21030	TG8	H0.95	L0	3,11E-08	3,15E-02	
21031	TG8	H0.96	L0	3,74E-08	3,89E-02	
21032	TG8	H0.97	L0	4,45E-08	3,44E-02	
21033	TG8	H0.98	L0	3,64E-08	2,58E-02	
21034	TG8	H0.99	L0	2,23E-08	1,77E-02	
21035	TG8	H0.100	L0	3,37E-08	2,26E-02	
21036	TG8	H0.101	L0	2,27E-08	1,79E-02	
21037	TG8	H0.102	L0	1,64E-08	1,84E-02	
21038	TG8	H0.103	L0	1,09E-08	1,03E-02	
21039	TG8	H0.104	L0	7,96E-08	4,16E-01	
21040	TG8	H0.105	L0	3,54E-08	2,87E-02	
21041	TG8	H0.106	L0	5,76E-08	3,36E-01	
21042	TG8	H0.107	L0	5,06E-08	3,82E-02	
21043	TG8	H0.110	L0	1,16E-07	4,05E-02	
21044	TG8	H0.111	L0	2,33E-07	2,48E-01	
21045	TG8	H0.112	L0	4,31E-07	5,82E-01	
21046	TG8	H0.114	L0	4,20E-08	7,45E-02	
21047	TG8	H0.115	L0	6,98E-08	7,11E-02	
21048	TG8	H0.116	L0	3,52E-08	3,42E-02	
21049	TG8	H0.117	L0	8,34E-07	2,83E-01	
21050	TG8	H0.118	L0	1,50E-07	1,23E-01	
21051	TG8	H0.119	L0	2,71E-08	4,85E-02	
21052	TG8	H0.120	L0	8,60E-08	7,91E-02	
21053	TG8	H0.121	L0	1,92E-07	3,86E-01	
21054	TG8	H0.122	L0	4,63E-08	2,90E-02	
21055	TG8	H0.123	L0	6,45E-07	1,88E-01	
21056	TG8	H0.124	L0	2,15E-07	2,02E-01	
21057	TG8	H0.125	L0	9,51E-07	1,77E-01	
21058	TG8	H0.126	L0	3,12E-07	1,44E-01	
21059	TG8	H0.127	L0	1,35E-07	1,43E-01	
21060	TG8	H0.128	L0	1,34E-07	1,68E-01	
21061	TG8	H0.129	L0	1,17E-08	1,53E-02	
21062	TG8	H0.130	L0	1,24E-07	9,49E-02	
21063	TG8	H0.131	L0	1,44E-07	6,58E-01	
21064	TG8	H0.132	L0	3,56E-05	2,33E-02	
21065	TG8	H0.134	L0	<1,0E-12	<1,0E-07	

ES 2 995 596 T3

Figura 56E

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21066	7G8	H0.141	L0	1,11E-07	2,25E-01	
21067	7G8	H0.142	L0	6,72E-08	8,34E-02	
21068	7G8	H0.143	L0	2,35E-07	2,77E-01	
21069	7G8	H0.145	L0	6,09E-08	6,17E-02	
21070	7G8	H0.146	L0	5,40E-08	9,04E-02	
21071	7G8	H0.147	L0	5,53E-07	3,88E-01	
21072	7G8	H0.148	L0	2,10E-07	1,79E-01	
21074	7G8	H0	L0.1	9,61E-08	1,30E-01	
21075	7G8	H0	L0.2	8,81E-08	9,74E-02	
21076	7G8	H0	L0.3	1,86E-07	2,70E-01	
21077	7G8	H0	L0.4	1,09E-07	1,76E-01	
21078	7G8	H0	L0.5	4,48E-08	4,49E-01	
21079	7G8	H0	L0.6	1,28E-07	1,39E-01	
21080	7G8	H0	L0.7	5,79E-06	7,16E-02	
21081	7G8	H0	L0.8	1,16E-07	4,00E-01	
21082	7G8	H0	L0.9	8,20E-06	1,43E-01	
21083	7G8	H0	L0.10	6,42E-08	1,08E-01	
21084	7G8	H0	L0.11	2,70E-08	2,64E-02	
21085	7G8	H0	L0.12	6,51E-08	7,19E-02	
21086	7G8	H0	L0.13	7,75E-08	1,04E-01	
21087	7G8	H0	L0.14	1,19E-07	2,90E-01	
21088	7G8	H0	L0.15	1,57E-07	3,83E-01	
21089	7G8	H0	L0.16	0,00E+00	<1,0E-07	
21090	7G8	H0	L0.17	2,80E-07	3,17E-01	
21091	7G8	H0	L0.18	6,26E-05	2,72E+01	
21092	7G8	H0	L0.19	1,27E-06	2,47E-01	
21093	7G8	H0	L0.20	5,16E-08	7,64E-02	
21094	7G8	H0	L0.21	5,43E-08	8,04E-02	
21095	7G8	H0	L0.22	1,06E-07	1,33E-01	
21096	7G8	H0	L0.23	5,58E-08	1,71E-01	
21101	7G8	H0	L0.24	4,43E-08	1,79E-01	
21102	7G8	H0	L0.25	6,10E-08	1,51E-01	
21103	7G8	H0	L0.26	7,99E-08	1,48E-01	
21104	7G8	H0	L0.27	5,62E-08	1,35E-01	
21105	7G8	H0	L0.28	7,77E-08	9,49E-02	
21106	7G8	H0	L0.29	7,83E-08	5,16E-02	
21107	7G8	H0	L0.30	5,72E-08	4,66E-02	
21108	7G8	H0	L0.31	1,05E-07	4,67E-02	

Figura 56F

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21109	7G8	H0	L0.32	4,68E-08	4,50E-02	
21110	7G8	H0	L0.33	6,87E+05	4,23E+08	
21111	7G8	H0	L0.34	2,75E-08	2,68E-02	
21112	7G8	H0	L0.35	9,77E-08	8,71E-02	
21113	7G8	H0	L0.36	1,20E-07	6,11E-02	
21114	7G8	H0	L0.37	3,00E-08	3,15E-02	
21115	7G8	H0	L0.38	1,12E-07	7,85E-02	
21116	7G8	H0	L0.39	3,17E-08	5,71E-02	
21117	7G8	H0	L0.40	2,27E-07	7,01E-01	
21118	7G8	H0	L0.41	8,48E-08	1,31E-01	
21119	7G8	H0	L0.42	2,50E-10	4,30E-03	
21120	7G8	H0	L0.43	2,39E-07	2,12E-01	
21121	7G8	H0	L0.44	2,46E-06	1,14E-01	
21122	7G8	H0	L0.45	1,75E-07	5,49E-01	
21123	7G8	H0	L0.46	2,60E-06	3,50E-01	
21124	7G8	H0	L0.47	6,27E-08	5,49E-02	
21125	7G8	H0	L0.48	3,15E-08	3,71E-02	
21126	7G8	H0	L0.49	5,22E-08	5,09E-02	
21127	7G8	H0	L0.50	4,37E-08	3,69E-02	
21128	7G8	H0	L0.51	2,23E-09	1,89E-02	
21129	7G8	H0	L0.52	5,88E-08	9,73E-02	
21130	7G8	H0	L0.53	3,55E-08	3,99E-02	
21131	7G8	H0	L0.54	8,64E-08	1,08E-01	
21132	7G8	H0	L0.55	Débil	Débil	
21133	7G8	H0	L0.56	6,02E-07	2,78E-01	
21134	7G8	H0	L0.57	3,63E-08	3,47E-02	
21135	7G8	H0	L0.58	1,65E-07	9,58E-02	
21136	7G8	H0	L0.59	2,27E-08	2,30E-02	
21137	7G8	H0	L0.60	2,65E-08	3,61E-02	
21138	7G8	H0	L0.61	9,30E-08	1,32E-01	
21139	7G8	H0	L0.62	2,91E-08	3,44E-02	
21140	7G8	H0	L0.63	3,40E-08	3,40E-02	
21141	7G8	H0	L0.64	3,69E-08	2,72E-02	
21142	7G8	H0	L0.65	3,09E-08	4,10E-02	
21143	7G8	H0	L0.66	7,34E-08	1,20E-01	
21144	7G8	H0	L0.67	1,26E-07	6,24E-02	
21145	7G8	H0	L0.68	8,99E-08	3,43E-01	
21146	7G8	H0	L0.69	5,94E-08	2,05E-01	

ES 2 995 596 T3

Figura 56G

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21147	7G8	HO	L0.70	4,22E-08	8,54E-02	
21148	7G8	HO	L0.71	1,79E-07	2,51E-01	
21149	7G8	HO	L0.72	1,23E-07	2,35E-01	
21150	7G8	HO	L0.73	7,55E-08	1,58E-01	
21151	7G8	HO	L0.74	1,64E-07	1,84E-01	
21152	7G8	HO	L0.75	9,32E-08	1,42E-01	
21153	7G8	HO	L0.76	Débil	Débil	
21154	7G8	HO	L0.77	1,87E-07	8,91E-02	
21155	7G8	HO	L0.78	2,94E-07	4,70E-02	
21156	7G8	HO	L0.79	Débil	Débil	
21157	7G8	HO	L0.80	Débil	Débil	
21158	7G8	HO	L0.81	Débil	Débil	
21159	7G8	HO	L0.82	6,04E-07	4,40E-01	
21160	7G8	HO	L0.83	6,50E-08	3,50E-02	
21161	7G8	HO	L0.84	3,52E-06	1,08E-01	
21162	7G8	HO	L0.85	9,89E-08	4,37E-02	
21163	7G8	HO	L0.86	4,90E-08	4,85E-02	
21164	7G8	HO	L0.87	1,25E-07	1,41E-01	
21165	7G8	HO	L0.88	1,90E-07	1,87E-01	
21166	7G8	HO	L0.89	3,52E-06	6,60E-02	
21167	7G8	HO	L0.90	2,54E-08	2,01E-02	
21168	7G8	HO	L0.91	1,12E-06	1,99E-01	
21169	7G8	HO	L0.92	1,20E-07	7,65E-02	
21170	7G8	HO	L0.93	4,81E-08	5,41E-02	
21171	7G8	HO	L0.94	6,64E-07	1,82E-01	
21172	7G8	HO	L0.95	7,61E-08	8,11E-02	
21173	7G8	HO	L0.96	7,95E-07	8,67E-02	
21174	7G8	HO	L0.97	6,75E-08	6,60E-02	
21175	7G8	HO	L0.98	6,19E-08	4,49E-02	
21176	7G8	HO	L0.99	3,97E-08	4,14E-02	
21177	7G8	HO	L0.100	8,53E-08	5,75E-02	
21178	7G8	HO	L0.101	3,33E-07	1,95E+00	
21179	7G8	HO	L0.102	1,04E-07	2,79E-01	
21180	7G8	HO	L0.103	1,50E-07	2,14E+01	
21181	7G8	HO	L0.104	6,11E+16	2,82E+26	
21182	7G8	HO	L0.105	Débil	Débil	
21183	7G8	HO	L0.106	3,27E-06	7,92E-02	
21184	7G8	HO	L0.107	Débil	Débil	

ES 2 995 596 T3

Figura 56H

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21558	7G8	H3.1	L0.59	7,44E-09	4,35E-03	
21559	7G8	H3.4	L0.59	6,72E-09	4,71E-03	
21560	7G8	H0.129	L0.59	7,05E-09	6,94E-03	
21561	7G8	H0.31	L0.59	6,39E-09	6,75E-03	
21562	7G8	H0.103	L0.59	3,09E-08	5,24E-03	
21563	7G8	H0.71	L0.59	7,04E-09	7,48E-03	
21564	7G8	H3.1	L0	6,73E-09	6,58E-03	
21565	7G8	H3.4	L0	8,47E-09	8,54E-03	
21566	7G8	H3.1	L0.11	4,56E-08	3,76E-02	
21567	7G8	H3.4	L0.11	5,84E-08	4,23E-02	
21568	7G8	H0.129	L0.11	1,26E-07	8,67E-02	
21569	7G8	H3.1	L0.34	1,05E-08	7,33E-03	
21570	7G8	H3.4	L0.34	1,13E-08	9,28E-03	
21571	7G8	H0.129	L0.34	1,33E-08	1,29E-02	
21662	7G8	H3.18	L1	3,04E-09	3,04E-03	
21663	7G8	H3.15	L1	3,50E-09	2,64E-03	
21664	7G8	H3.19	L1	7,41E-09	7,68E-03	
21665	7G8	H3.17	L1	4,07E-09	3,47E-03	
21666	7G8	H3.16	L1	1,63E-08	4,73E-03	
21667	7G8	H3.21	L1	8,57E-09	2,33E-03	
21668	7G8	H3.22	L1			
21669	7G8	H3.23	L1	4,10E-09	3,88E-03	
21670	7G8	H3.18	L1.11	2,88E-09	2,39E-03	54,5
21671	7G8	H3.15	L1.11	2,76E-09	2,48E-03	
21672	7G8	H3.19	L1.11	4,23E-09	4,54E-03	
21673	7G8	H3.17	L1.11	3,75E-09	2,73E-03	
21674	7G8	H3.16	L1.11	1,16E-08	3,38E-03	
21675	7G8	H3.21	L1.11	9,61E-09	2,05E-03	
21676	7G8	H3.22	L1.11			
21677	7G8	H3.23	L1.11	2,83E-09	2,29E-03	
21678	7G8	H3.18	L1.13	6,65E-09	5,02E-03	
21679	7G8	H3.15	L1.13	8,37E-09	4,87E-03	
21680	7G8	H3.19	L1.13	1,70E-08	9,72E-03	
21681	7G8	H3.17	L1.13	1,19E-08	7,68E-03	
21682	7G8	H3.16	L1.13	2,95E-08	1,38E-02	
21683	7G8	H3.21	L1.13	1,10E-08	5,13E-03	
21684	7G8	H3.22	L1.13			
21685	7G8	H3.23	L1.13	1,02E-08	7,76E-03	

ES 2 995 596 T3

Figura 56I

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
21686	7G8	H3.18	L1.15	9,47E-09	7,62E-03	
21687	7G8	H3.15	L1.15	2,04E-08	7,79E-03	
21688	7G8	H3.19	L1.15	1,75E-08	1,04E-02	
21689	7G8	H3.17	L1.15	2,19E-08	1,21E-02	
21690	7G8	H3.16	L1.15	9,19E-08	9,61E-03	
21691	7G8	H3.21	L1.15	2,34E-08	8,44E-03	
21692	7G8	H3.22	L1.15	2,12E-08	1,31E-02	
21693	7G8	H3.23	L1.15	8,80E-09	6,46E-03	
21694	7G8	H3	L1.9	3,14E-07	1,16E-01	
21695	7G8	H3	L1.10	8,99E-08	3,06E-02	
21696	7G8	H3	L1.11	4,10E-08	1,48E-02	
21701	7G8	H3	L1.12	4,12E-06	2,07E-01	
21702	7G8	H3	L1.13	2,91E-07	8,61E-02	
21703	7G8	H3	L1.14	1,34E-07	2,39E-02	
21704	7G8	H3	L1.15	1,08E-06	3,49E-01	
21742	7G8	H3.11	L1.13	1,85E-08	1,25E-02	
21743	7G8	H3.4	L1.13	2,90E-08	2,04E-02	
21744	7G8	H3.1	L1.13	4,92E-08	1,89E-02	
21745	7G8	H3.11	L1.15	1,84E-08	1,33E-02	
21746	7G8	H3.4	L1.15	4,31E-08	1,71E-02	
21747	7G8	H3.1	L1.15	2,69E-07	0,0364	
21889	7G8	H3.27	L1	2,48E-09	3,04E-03	
21890	7G8	H3.27	L1.11	2,20E-09	1,81E-03	
21891	7G8	H3.27	L1.13	5,02E-09	5,79E-03	
21892	7G8	H3.28	L1	3,55E-09	4,33E-03	
21893	7G8	H3.28	L1.11	2,10E-09	2,67E-03	
21894	7G8	H3.28	L1.13	6,83E-09	7,95E-03	
22379	7G8	H3.29	L1.11			
22380	7G8	H3.30	L1.11	2,07E-09	2,11E-03	59,5
22381	7G8	H3.31	L1.11	6,94E-09	6,82E-03	
22382	7G8	H3.32	L1.11			
22383	7G8	H3.33	L1.11	6,00E-09	5,14E-03	62,5
22384	7G8	H3.34	L1.11	9,12E-09	2,43E-03	55,0
22385	7G8	H3.35	L1.11	3,18E-09	2,66E-03	56,0
22386	7G8	H3.36	L1.11			
22387	7G8	H3.37	L1.11			
22388	7G8	H3.38	L1.11			
22389	7G8	H3.39	L1.11	3,57E-09	2,54E-03	

ES 2 995 596 T3

Figura 56J

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
22390	7G8	H3.40	L1.11			
22391	7G8	H3.41	L1.11			
22392	7G8	H3.42	L1.11			
22393	7G8	H3.43	L1.11			
22394	7G8	H3.44	L1.11			
22395	7G8	H3.45	L1.11			
22396	7G8	H3.46	L1.11			
22401	7G8	H3.47	L1.11	3,50E-09	2,68E-03	
22402	7G8	H3.48	L1.11			
22403	7G8	H3.49	L1.11	2,37E-09	2,85E-03	55,0
22404	7G8	H3.50	L1.11			
22405	7G8	H3.51	L1.11			
22406	7G8	H3.52	L1.11			
22407	7G8	H3.53	L1.11			
22408	7G8	H3.18	L1.16	2,83E-09	3,27E-03	58,0
22409	7G8	H3.18	L1.17	3,04E-09	3,25E-03	56,0
22410	7G8	H3.18	L1.18			
22411	7G8	H3.18	L1.19			
22412	7G8	H3.18	L1.20			
22413	7G8	H3.18	L1.21			
22414	7G8	H3.18	L1.22			
22415	7G8	H3.18	L1.23			
22416	7G8	H3.18	L1.24			
22417	7G8	H3.18	L1.25			
22418	7G8	H3.18	L1.26			
22419	7G8	H3.18	L1.27			
22420	7G8	H3.18	L1.28	2,36E-09	2,55E-03	
22421	7G8	H3.18	L1.29			
22422	7G8	H3.18	L1.30	1,95E-09	3,13E-03	63,0
22423	7G8	H3.18	L1.31	2,65E-09	2,84E-03	
22424	7G8	H3.18	L1.32	2,98E-09	2,95E-03	
22425	7G8	H3.18	L1.33			
22582	7G8	H3.30	L1.30	2,34E-09	2,03E-03	67,5
22583	7G8	H3.33	L1.30	4,51E-09	3,15E-03	68,5
22588	7G8	H3.54	L1.30	8,45E-10	2,18E-03	65,5
22589	7G8	H3.55	L1.30	2,86E-09	4,56E-03	67,5
22590	7G8	H3.56	L1.30	4,85E-08	1,55E-03	66,5
22591	7G8	H3.57	L1.30	3,24E-09	3,45E-03	68,5

ES 2 995 596 T3

Figura 56K

XENP	Clon	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF A _M (°C)
22592	7G8	H3.58	L1.30	1,97E-09	2,31E-03	67,0
22593	7G8	H3.59	L1.30	3,54E-09	3,88E-03	69,0
22594	7G8	H3.30	L1.34	6,30E-10	1,48E-03	68,5
22595	7G8	H3.30	L1.36	2,86E-09	2,86E-03	69,5
22596	7G8	H3.33	L1.34	3,45E-09	3,02E-03	68,5
22601	7G8	H3.33	L1.36	1,09E-08	6,95E-03	70,0

Figura 57A

XENP	Lado de Fab (anti-LAG-3)	Lado de scFv (anti-CTLA-4)	LAG-3 KD humano (M)
22518	2A11_H1.144_L2.133	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,7E-09
22506	2A11_H1.144_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2,0E-10
22505	2A11_H1.125_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	4,0E-10
22509	2A11_H1_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	7,8E-10
20444	2A11_H1L2	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	3,5E-09
21859	2A11_H1_L2.47	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	3,5E-10
21860	2A11_H1_L2.50	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,2E-09
22507	2A11_H1.117_L2.116	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	6,2E-10
22508	2A11_H1.144_L2	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,2E-09
22510	2A11_H1_L2.25	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2,3E-08
22630	2A11_H1.144_L2.137	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	9,4E-10

Figura 57B

XENP	Lado de Fab (anti-LAG-3)	Lado de scFv (anti-CTLA-4)	LAG-3 KD humano (M)
20833	7G8_H3L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	9,1
21895	7G8_H3.18_L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,1
21896	7G8_H3.18_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,0
21901	7G8_H3.15_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	
21902	7G8_H3.23_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,1
21903	7G8_H3.18_L1.13	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2,2
21904	7G8_H3.28_L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,7
21905	7G8_H3.28_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,1
21906	7G8_H3.28_L1.13	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2,1
22555	7G8_H3.30_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,2
22556	7G8_H3.33_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2,6
22557	7G8_H3.18_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0,7
22558	7G8_H3.30_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0,3
22559	7G8_H3.33_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1,6
22602	7G8_H3.30_L1.34	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0,2
22603	7G8_H3.30_L1.36	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0,4

Figura 58

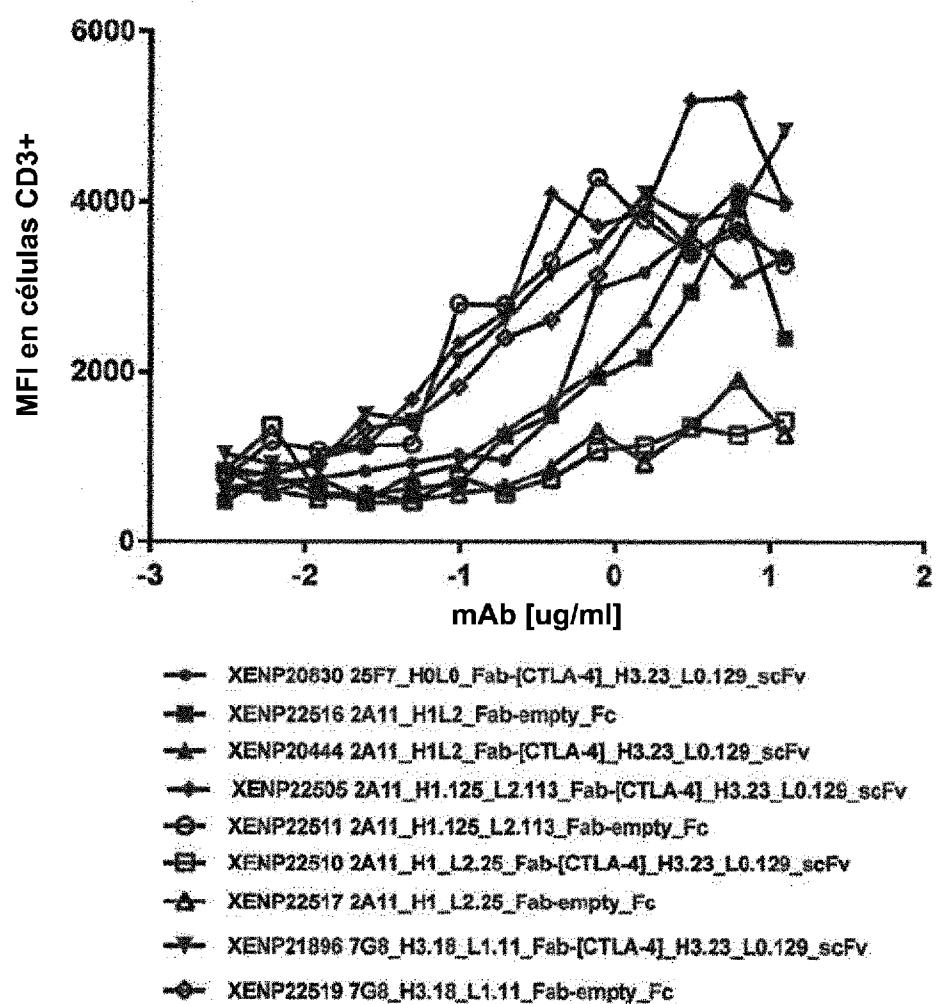


Figura 59A

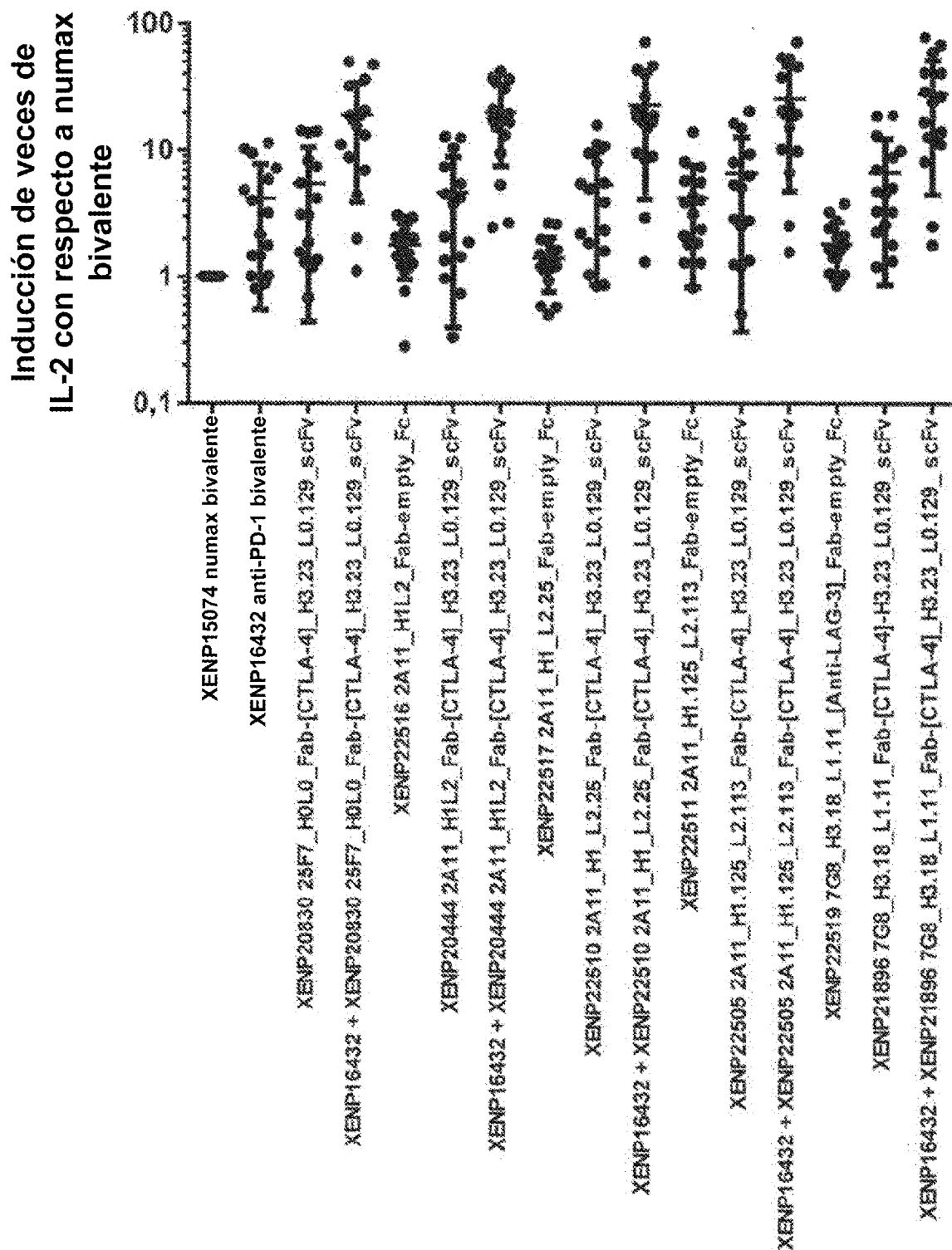


Figura 59B

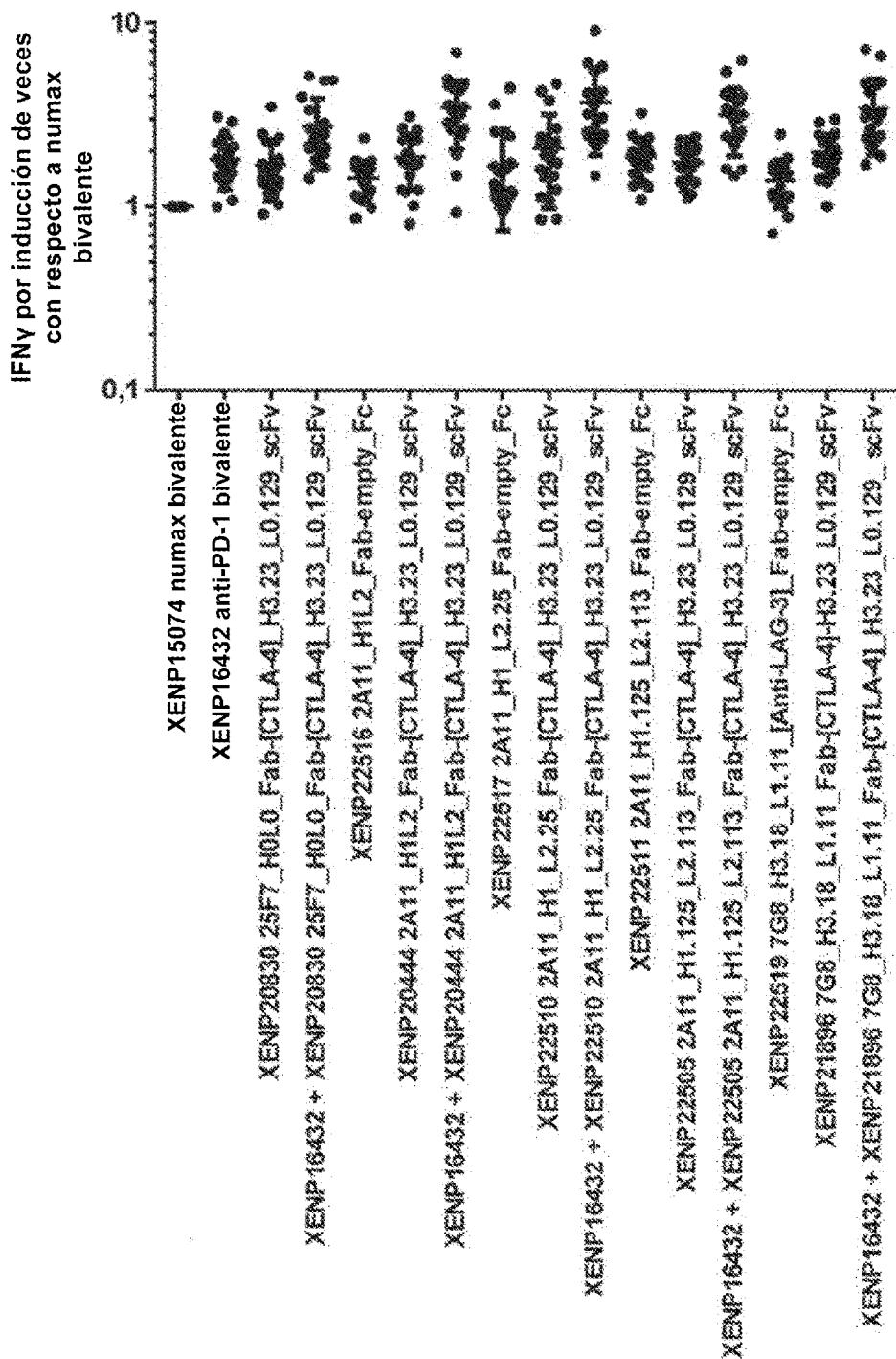


Figura 60A

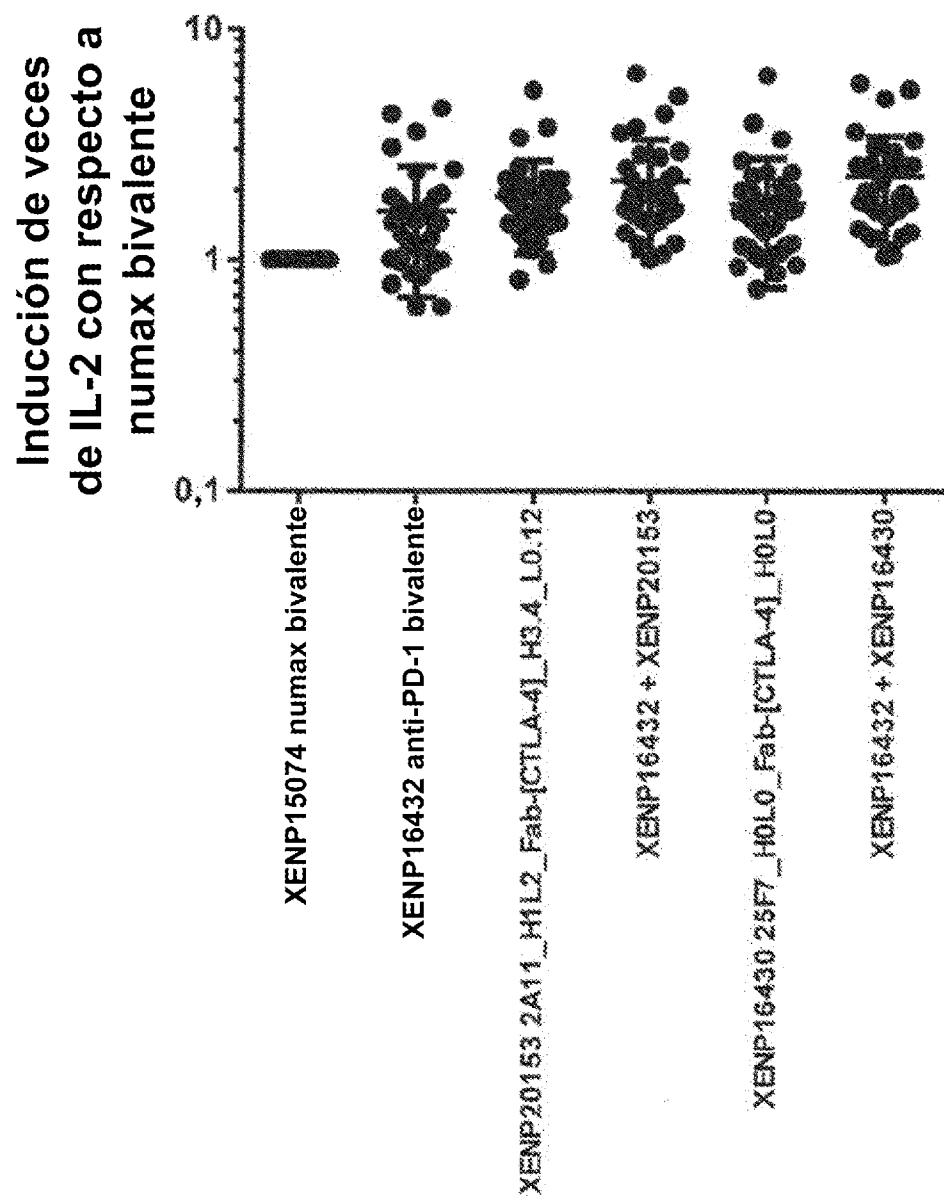


Figura 60B

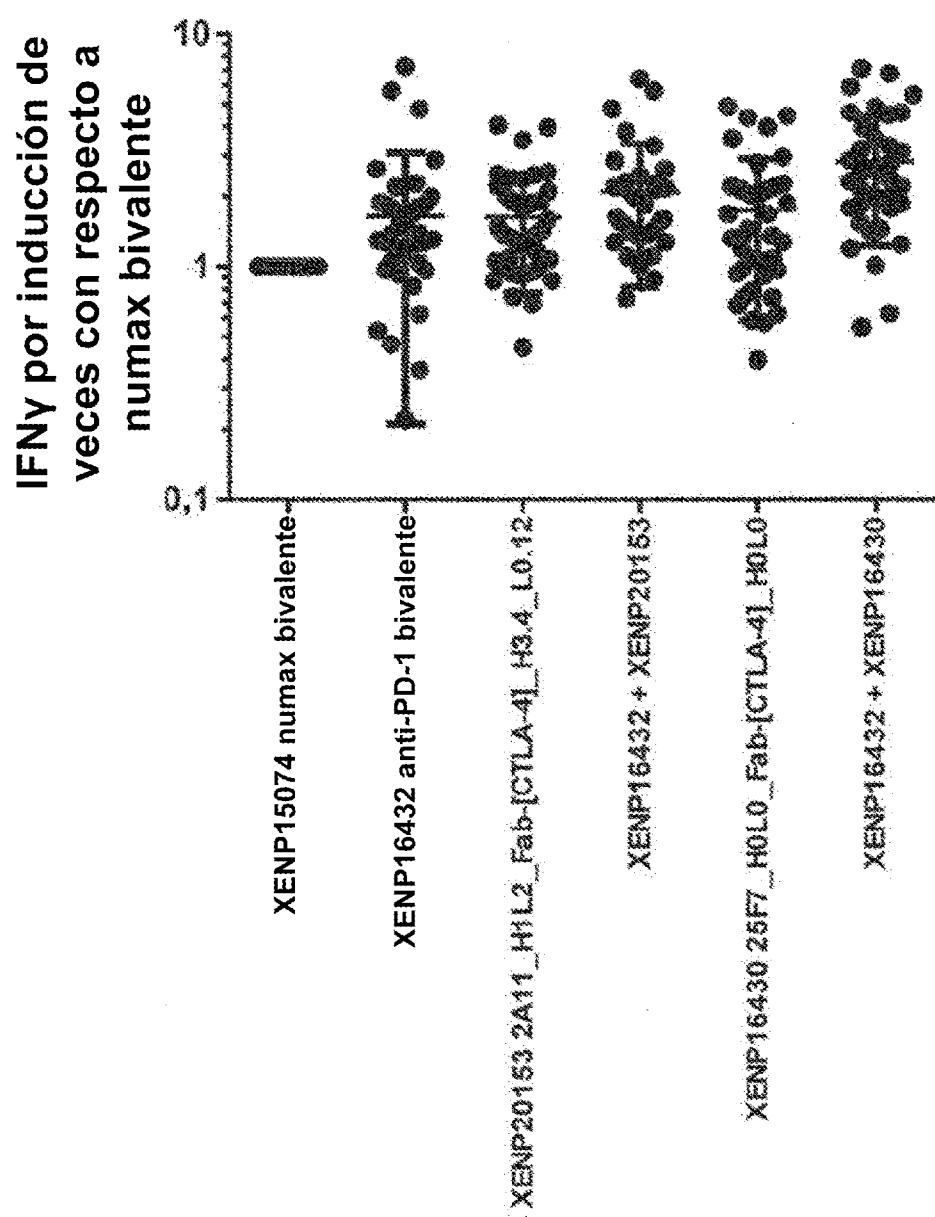


Figura 61A

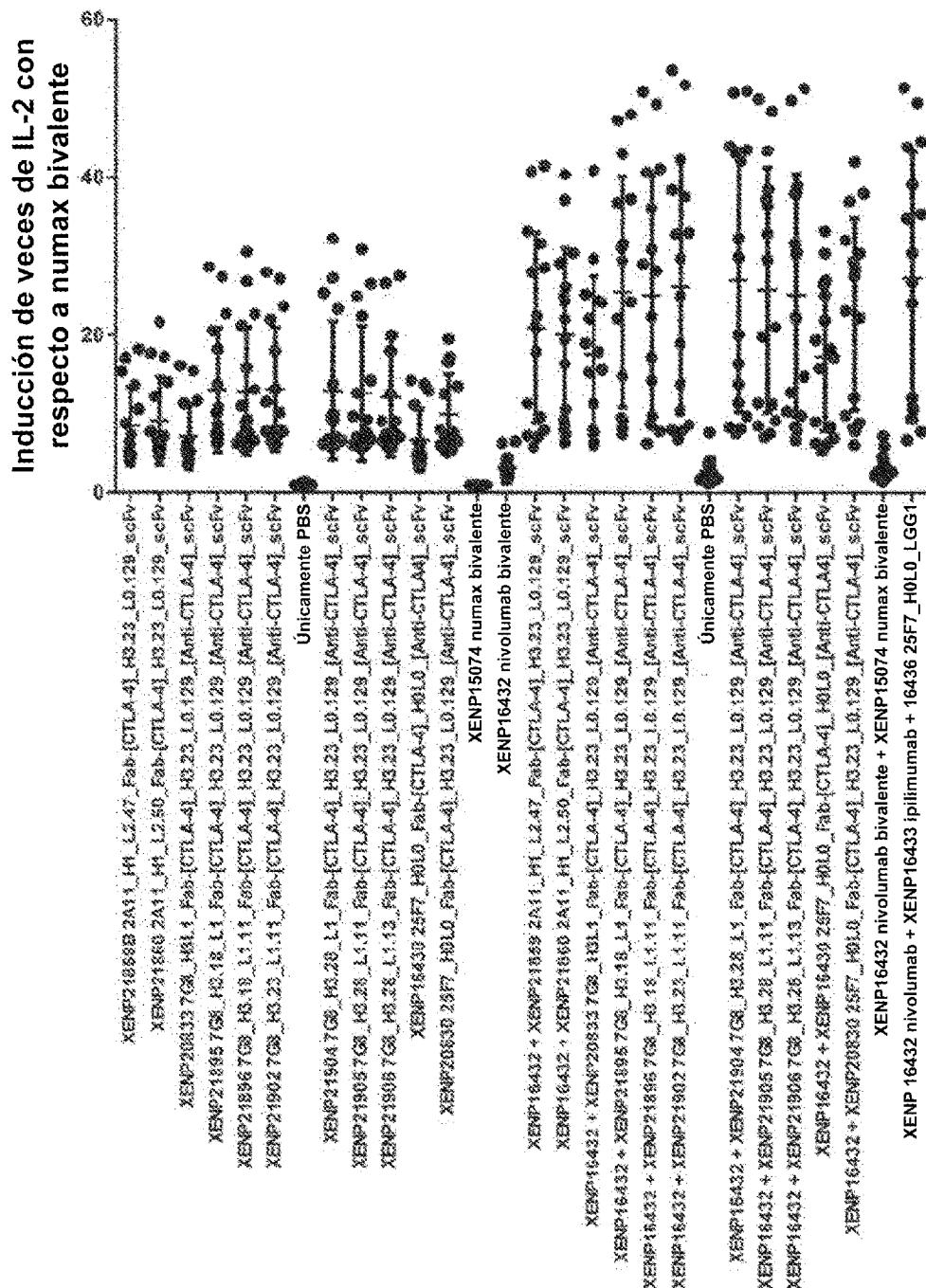


Figura 61B

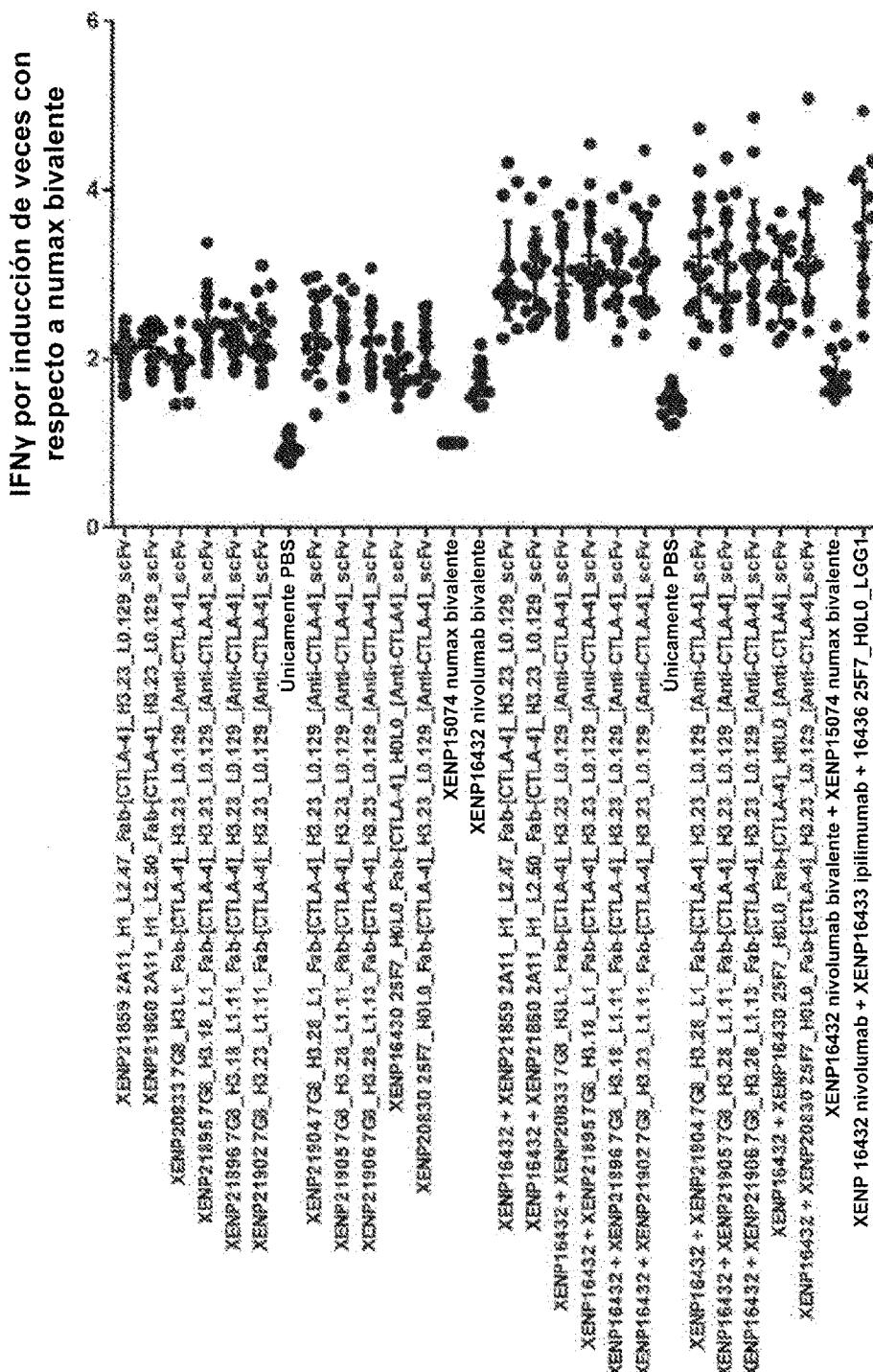


Figura 62A

XENP	Lado de Fab (anti-LAG-3)	Lado de scFv (anti-PD-1)	LAG-3 KD humano (M)
20206	2A11_H1L2	1G6_L1.194_H1.279	2,2E-09
21584	2A11_H1_L2.93	1G6_L1.194_H1.279	1,4E-08
22123	2A11_H1_L2.122	1G6_L1.194_H1.279	1,9E-08
22125	2A11_H1_L2.124	1G6_L1.194_H1.279	2,0E-08
21582	2A11_H1_L2.91	1G6_L1.194_H1.279	6,2E-09
22627	2A11_H1.144_L2.133	1G6_L1.194_H1.279	3,8E-10
22628	2A11_H1.125_L2.113	1G6_L1.194_H1.279	<1,0E-12
22629	2A11_H1.144_L2.113	1G6_L1.194_H1.279	4,4E-11

Figura 62B

XENP	Lado de Fab (anti-LAG-3)	Lado de scFv (anti-PD-1)	LAG-3 KD humano (M)
22521	7G8_H3.18_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22522	7G8_H3.28_L1.13	1G6_L1.194_H1.279	NT
22565	7G8_H3.30_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22566	7G8_H3.33_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22567	7G8_H3.18_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	1,0
22568	7G8_H3.30_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	0,3
22569	7G8_H3.33_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	1,5
22604	7G8_H3.30_L1.34	1G6_L1.194_H1.279	0,5
22605	7G8_H3.30_L1.36	1G6_L1.194_H1.279	0,5

Figura 63A

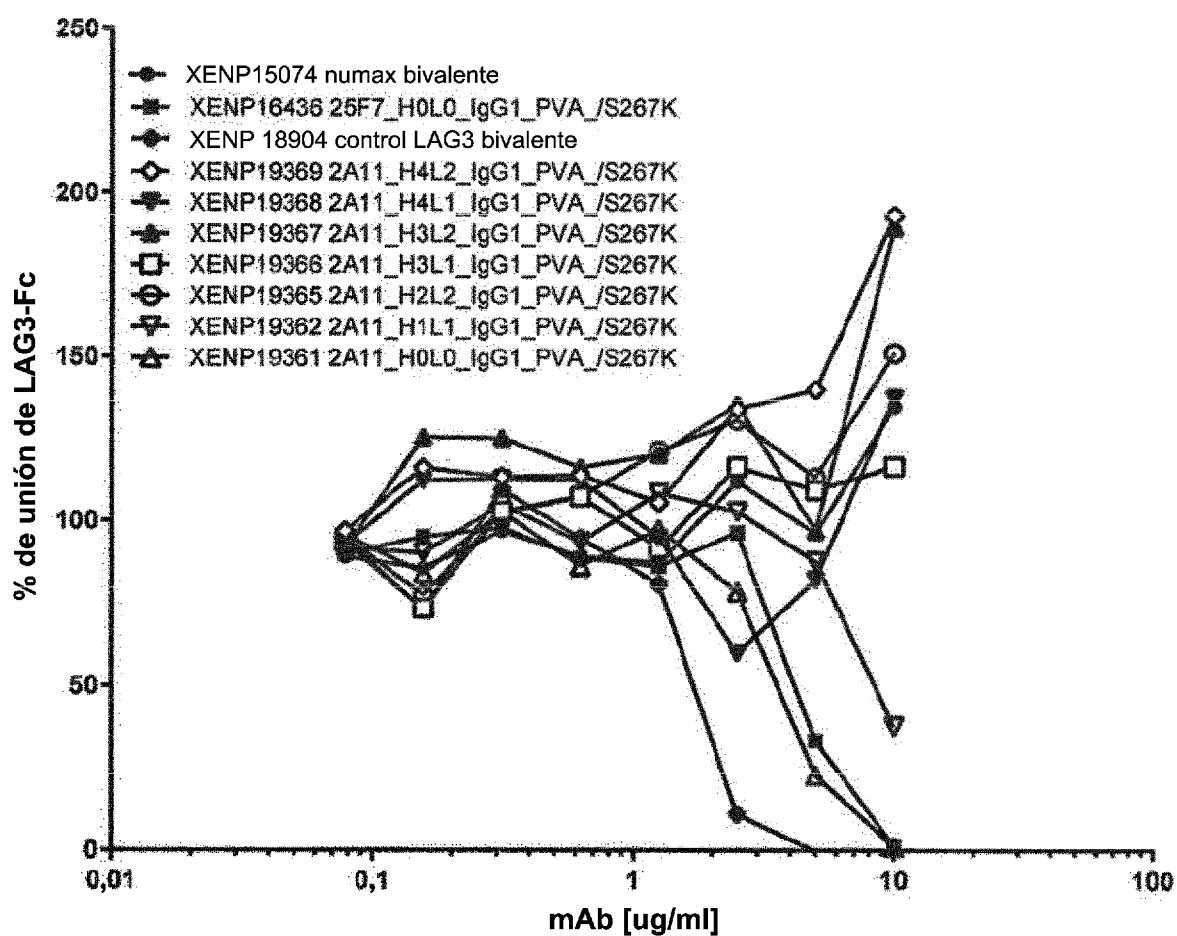


Figura 63B

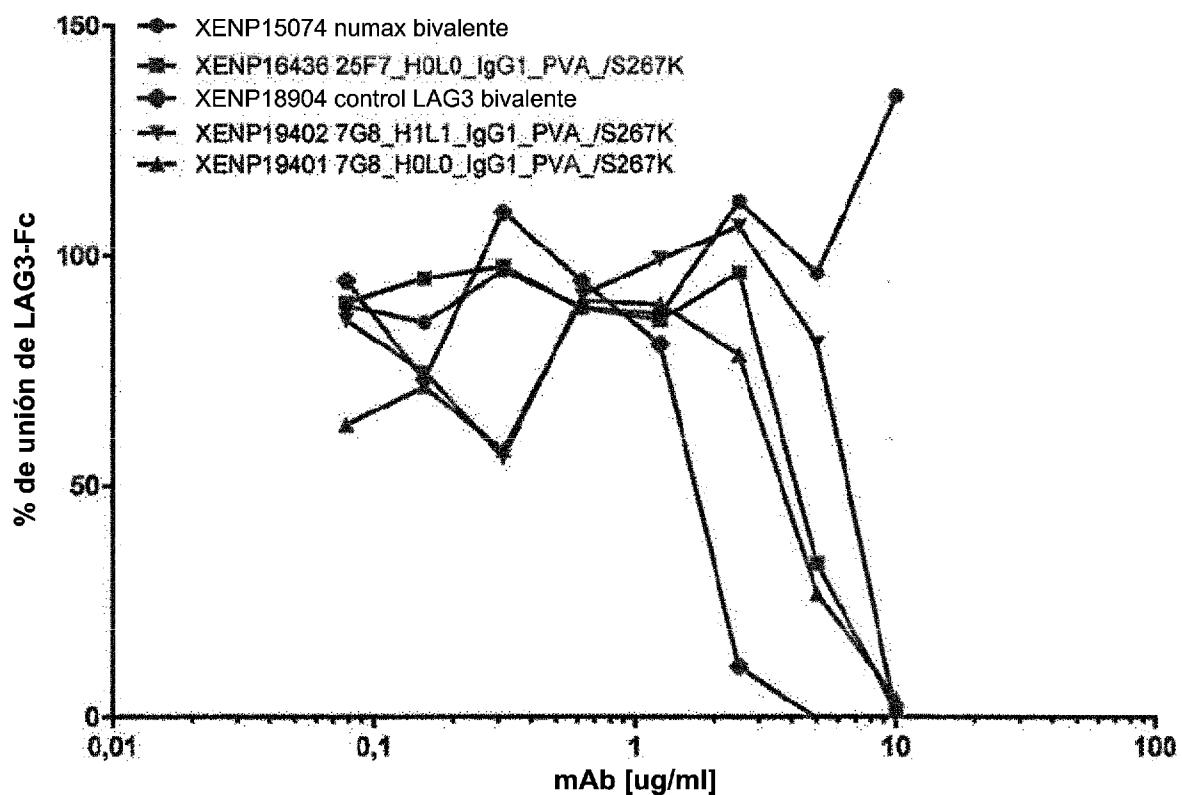


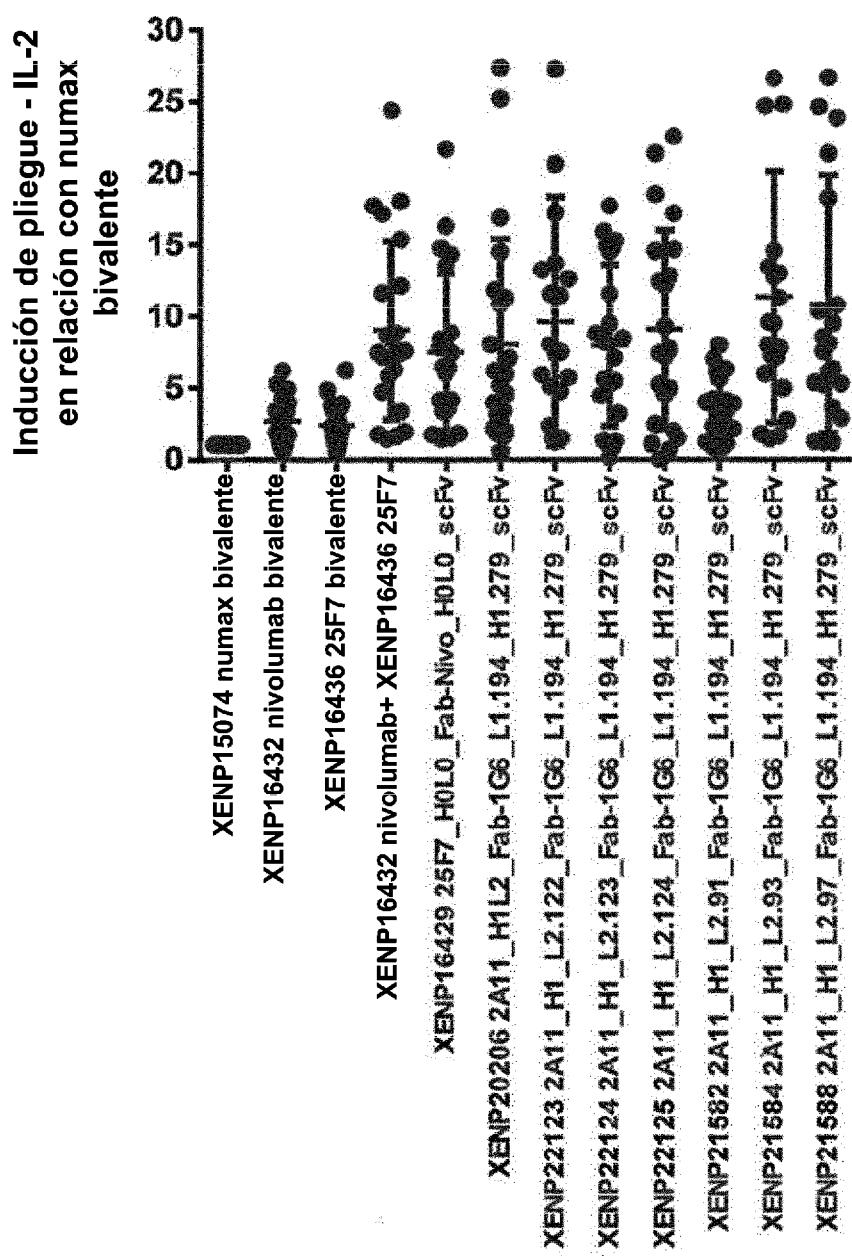
Figura 64A

Figura 64B

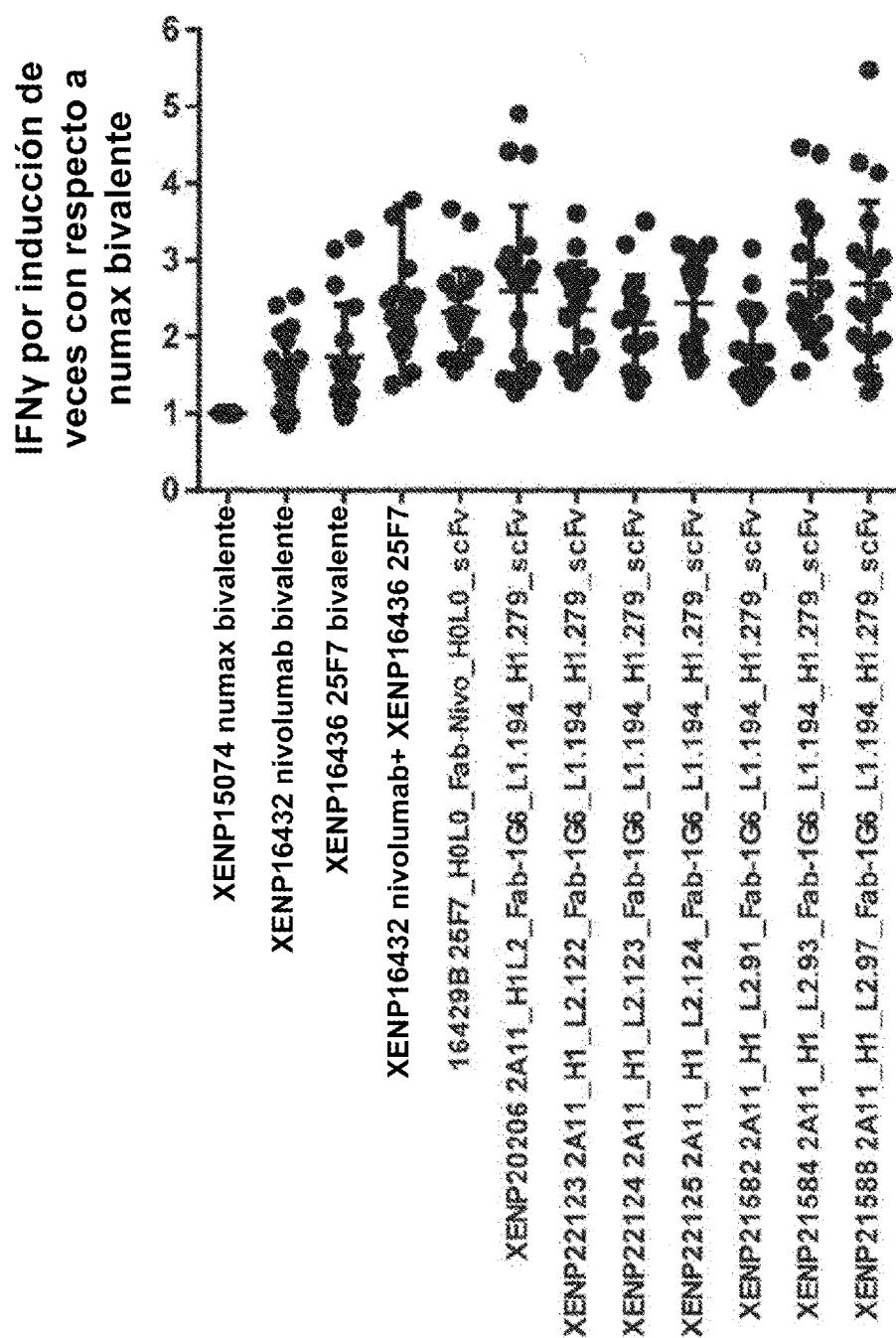
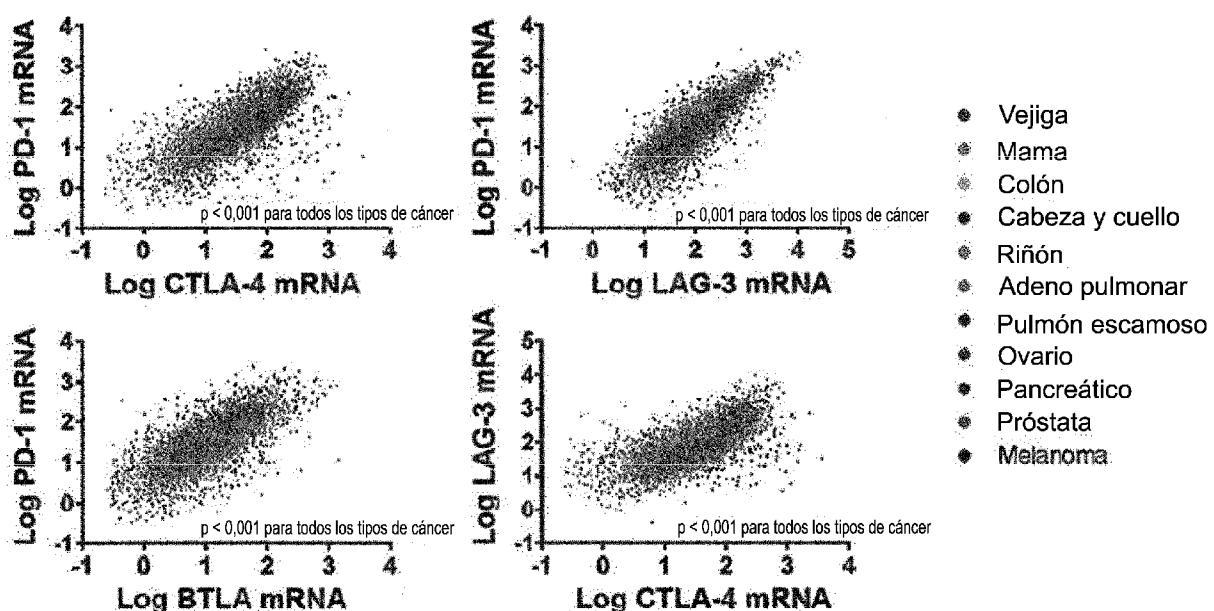


Figura 65



Los resultados mostrados se basan en datos generados por la red
de investigación TCGA:
<http://cancergenome.nih.gov/>

Figura 66

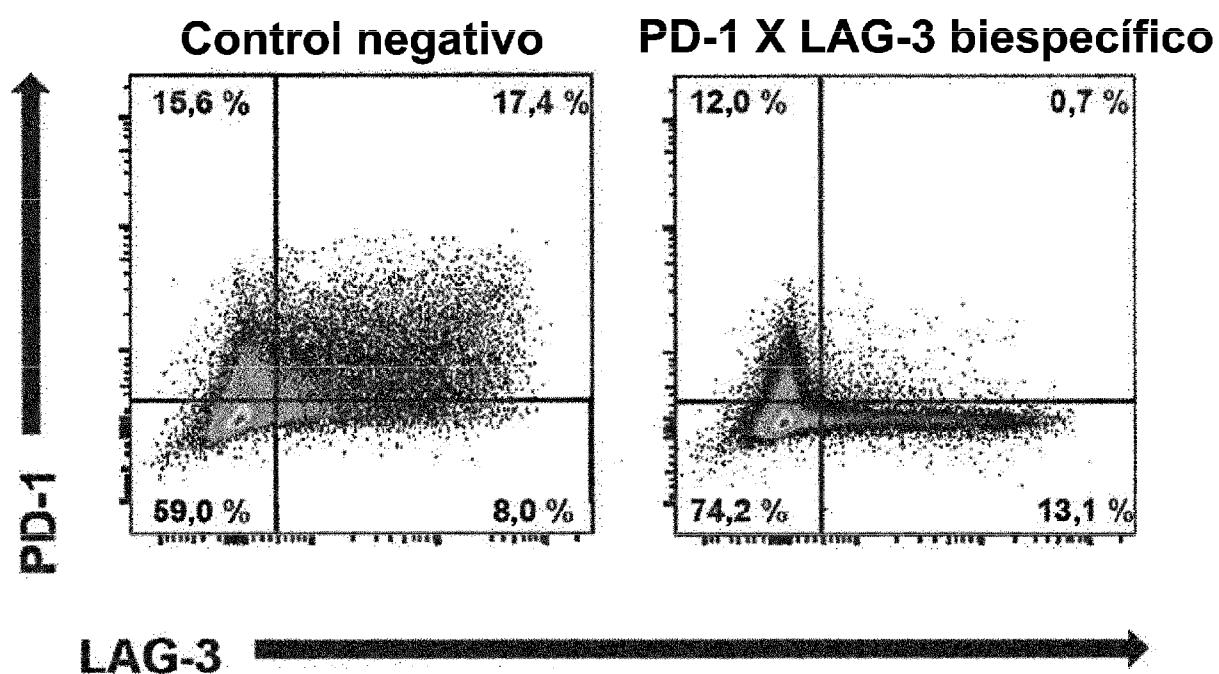


Figura 67A

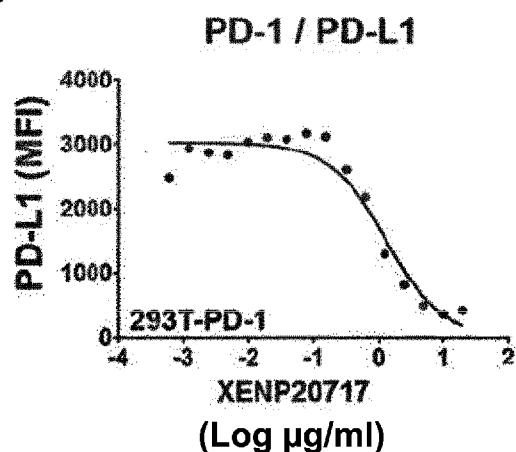


Figura 67B

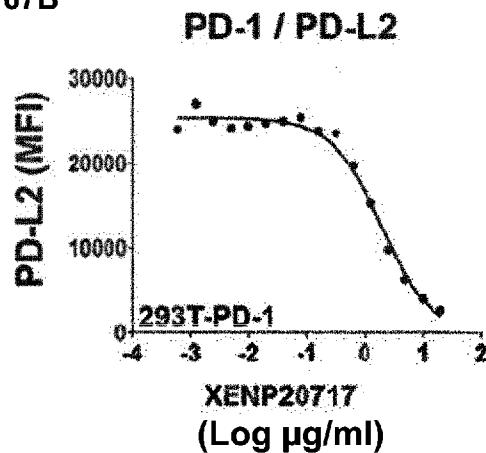


Figura 67C

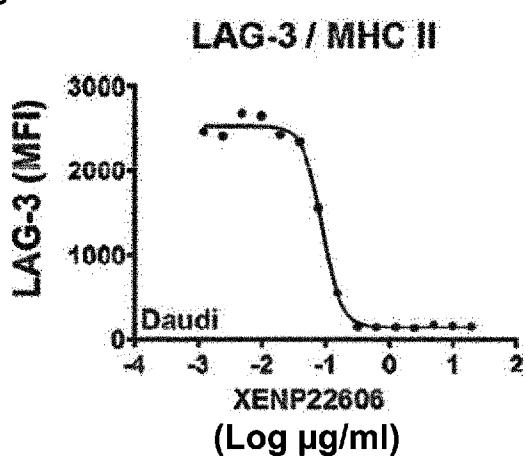


Figura 67D

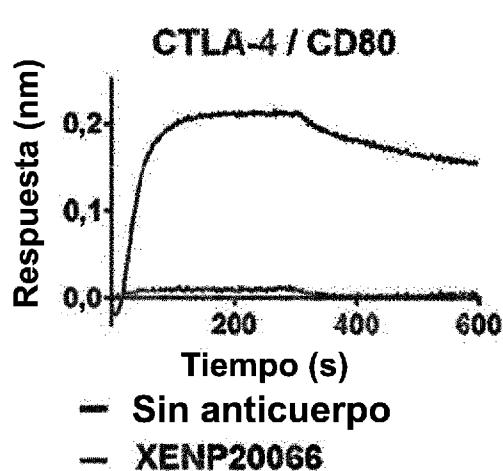


Figura 67E

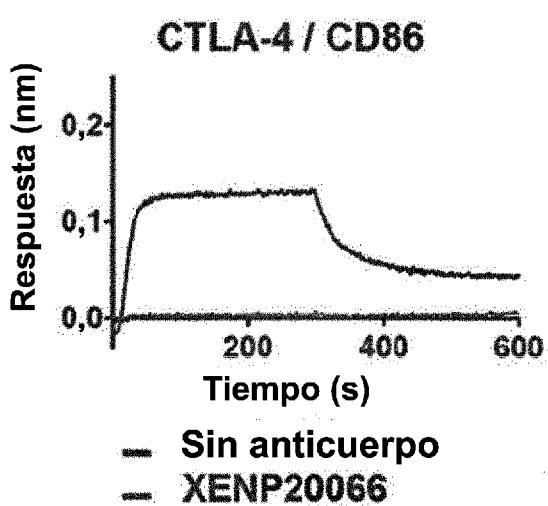


Figura 67F

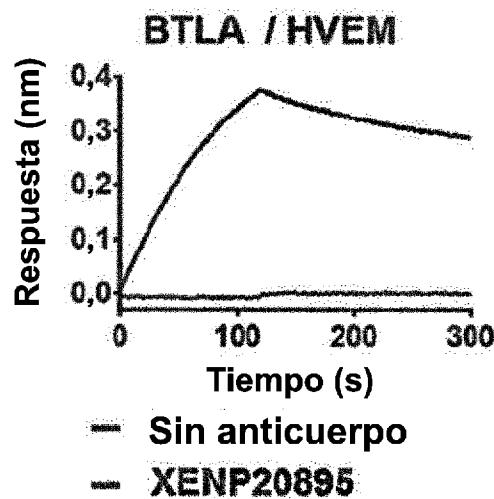
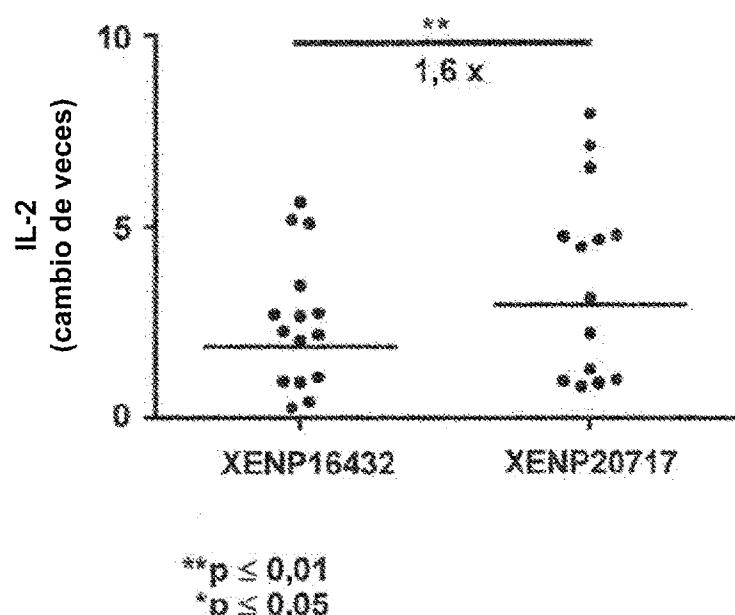
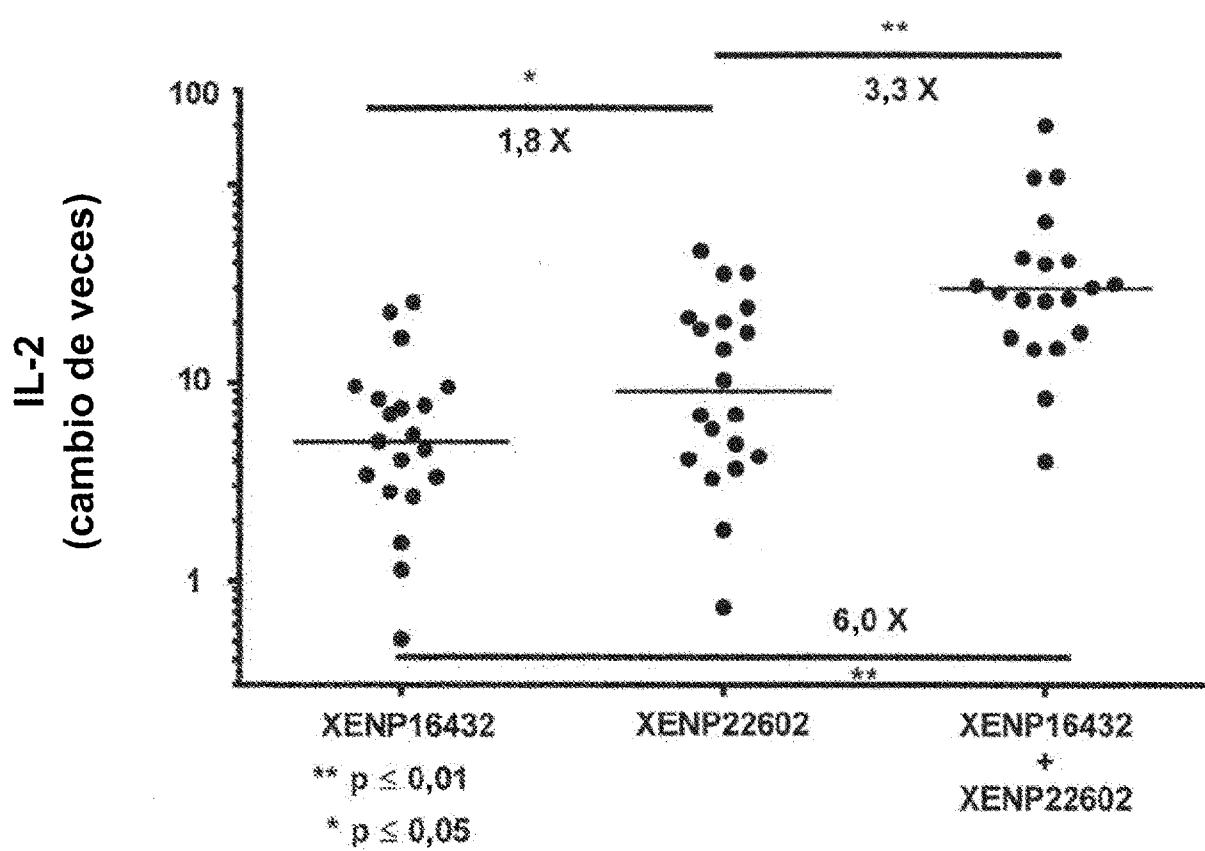


Figura 68



** $p \leq 0,01$
* $p \leq 0,05$

Figura 69



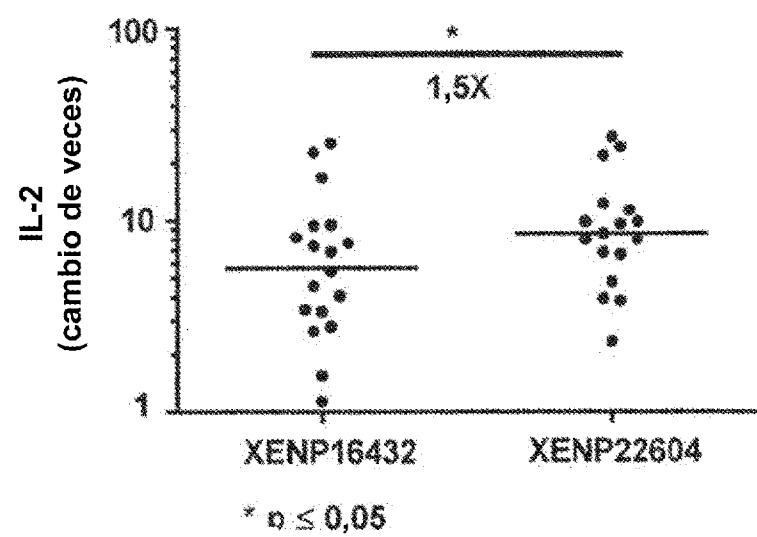


Figura 70

Figura 71

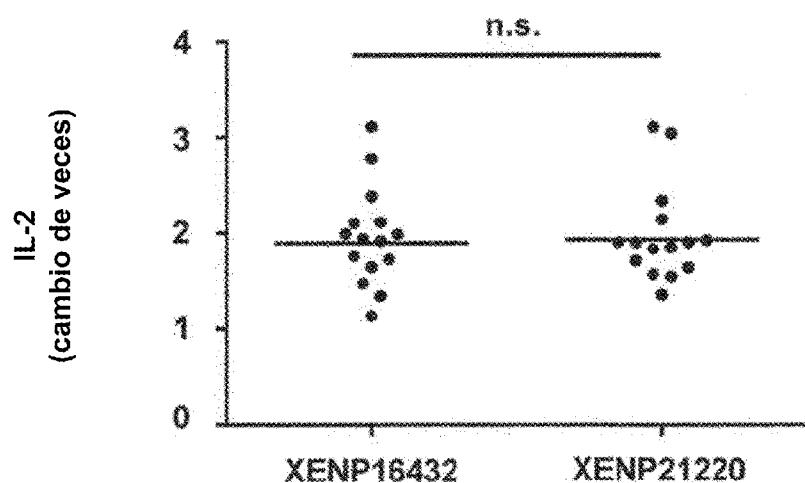


Figura 72

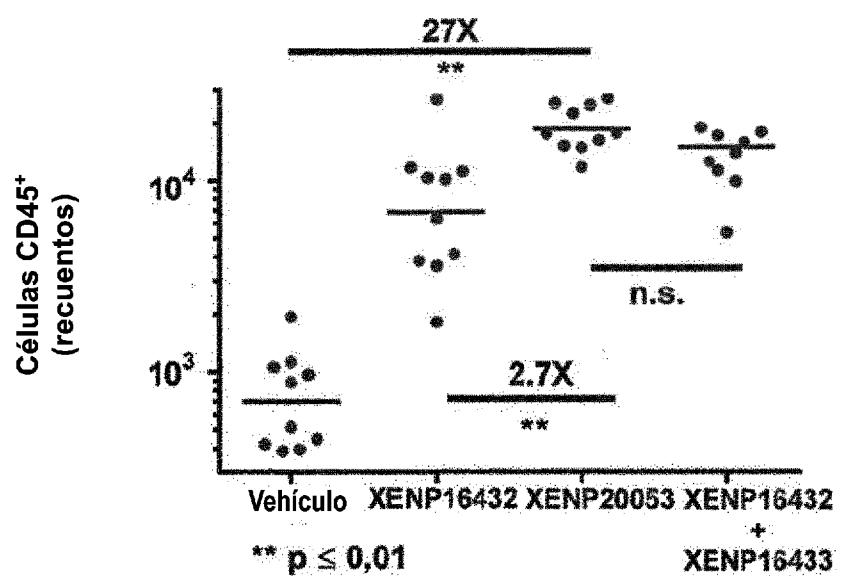


Figura 73

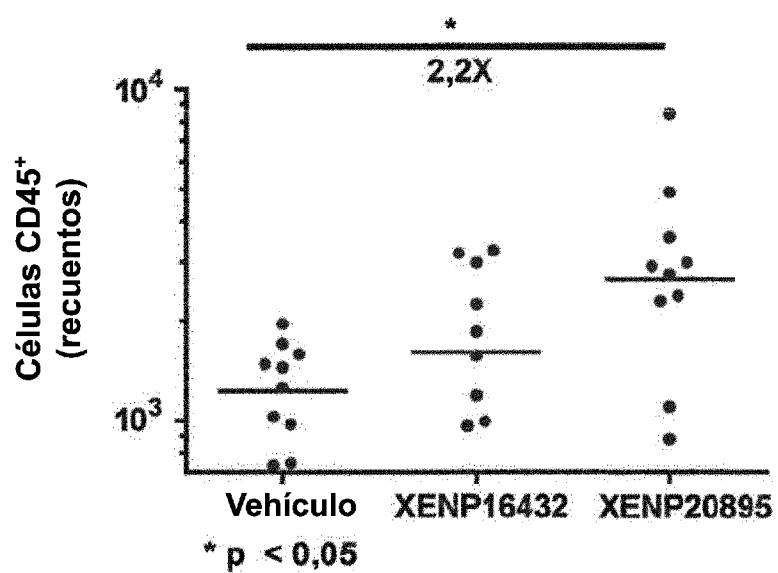


Figura 74

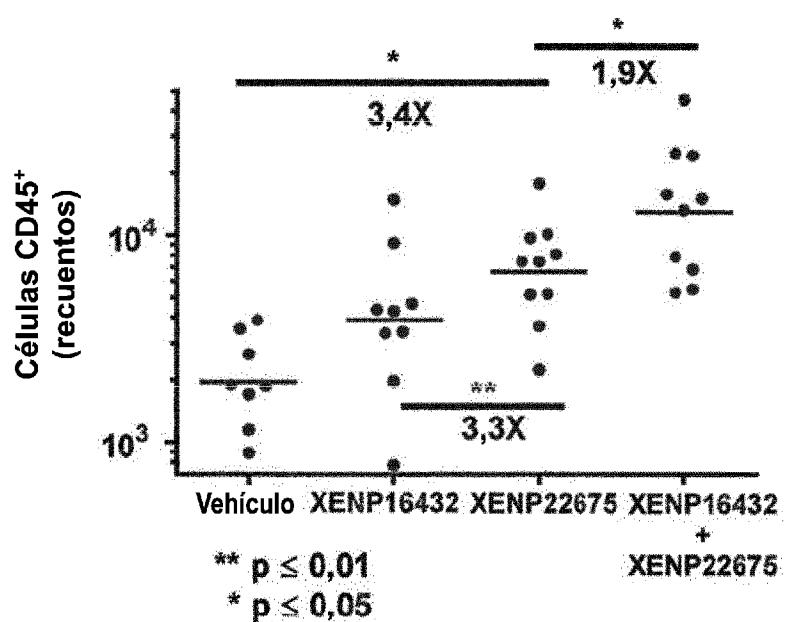


Figura 75

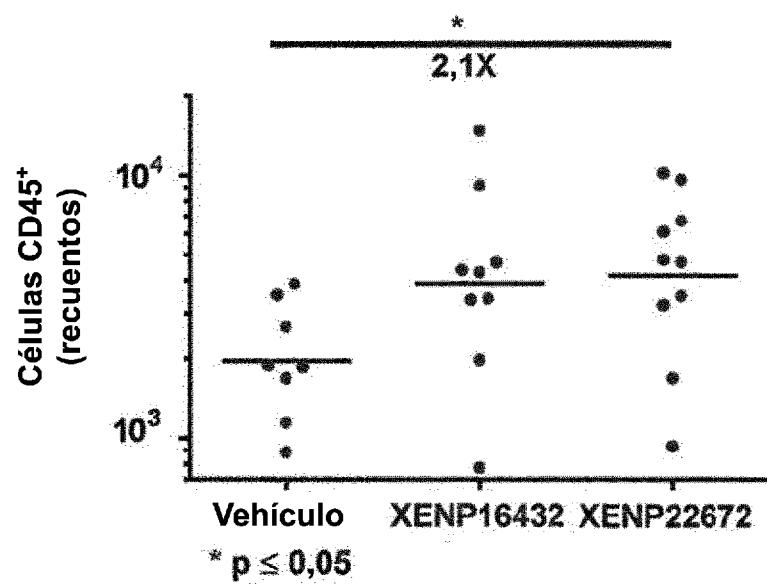


Figura 76A



Estudio n.º 1

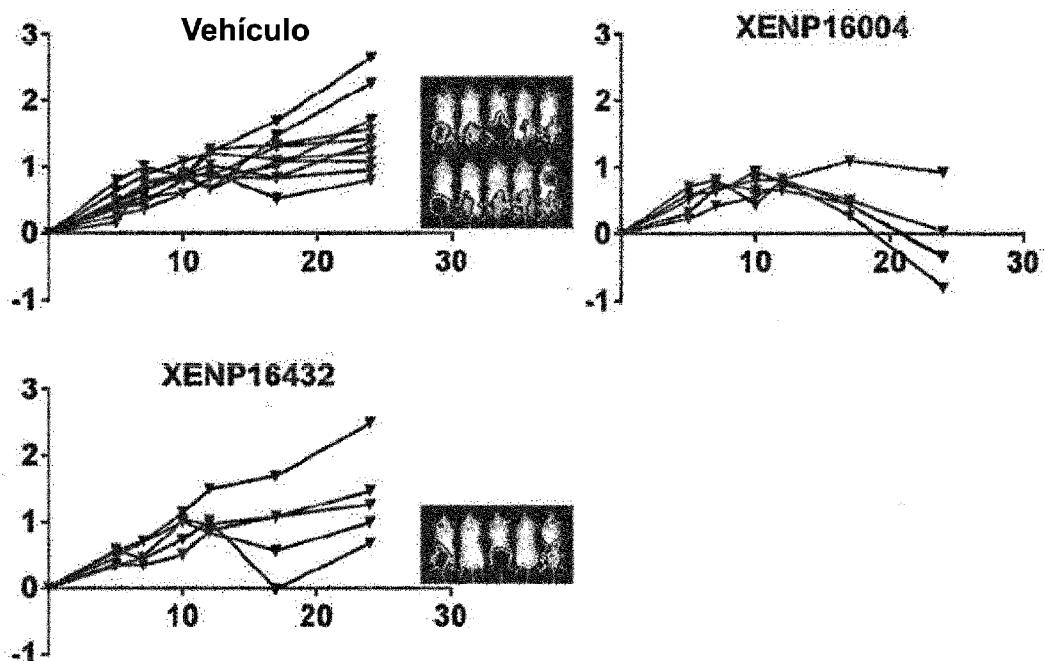


Figura 76B

