

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 618**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2016 PCT/EP2016/068780**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2017 WO17021540**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2016 E 16762975 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 3328894**

54 Título: **Anticuerpos frente a IL2R-Beta/cadena gamma común**

30 Prioridad:

06.08.2015 SG 10201506227V

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

26.04.2019

73 Titular/es:

**AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND
RESEARCH (100.0%)
1 Fusionopolis Way 20-10 Connexis
Singapore 138632, SG**

72 Inventor/es:

**WANG, CHENG-I;
BRAUER, PETER;
YEO, SIOK PING;
TAN, HWEE CHING y
CONNOLLY, JOHN EDWARD**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 710 618 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 frente a IL2R-Beta/cadena gamma común

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a anticuerpos que se unen al receptor β de la interleucina 2 (IL-2R β ; CD122) y la cadena γ común (γ c; CD132).

10 **Antecedentes de la invención**

La IL-2 es una citocina esencial que desempeña un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de los linfocitos T y en la mediación de las respuestas inmunitarias adecuadas. Su alta potencia como estimulante inmunológico ha llevado a usos clínicos para tratar diversas afecciones, incluidos cáncer y SIDA; también se usa ampliamente como adyuvante para la vacunación para estimular la activación y proliferación de varias células efectoras.

Sin embargo, la alta dosis de IL-2 que se requiere para el tratamiento eficaz de ciertas enfermedades es altamente tóxica. Los principales efectos adversos de dicha terapia incluyen el síndrome de fuga capilar (SFC), que da como resultado la acumulación del fluido intravascular en órganos como el pulmón y el hígado con el consiguiente edema pulmonar y daño hepático. No hay tratamiento para el SFC excepto retirar la terapia.

La IL-2 ejerce sus funciones pleiotrópicas al unirse a diferentes combinaciones de componentes del receptor expresados en diferentes tipos de células: la cadena alfa (IL-2R α , también conocido como CD25), la cadena beta (IL-2R β o CD122) y la cadena gamma común del receptor de citocinas (IL-2R γ , γ c o CD132).

El IL-2R α aislado se ha denominado receptor de IL-2 de "baja afinidad" (afinidad de unión $K_D \sim 10$ nM) y no está involucrado en la transducción de señales. Un complejo de IL-2R β y γ c se une a IL-2 con afinidad intermedia ($K_D \sim 1$ nM), aunque el IL-2R β solo tiene una afinidad muy baja ($K_D \sim 100$ nM) y γ c solo no tiene virtualmente una afinidad de unión detectable para IL-2. Un complejo con las tres subunidades, IL-2R α , IL-2R β y γ c, se une a IL-2 con una afinidad alta ($K_D \sim 10$ pM).

La heterodimerización de IL-2R β y γ c es necesaria y suficiente para la transducción de señales eficaz a través de la interacción de sus dominios citoplasmáticos y la posterior activación de quinasas de múltiples vías de señalización; el IL-2R α no desempeña ningún papel en la transducción de señales.

Los IL-2R de α - β - γ c de alta afinidad generalmente se encuentran en los linfocitos T CD4⁺ reguladores (Treg), así como en los linfocitos T activados recientemente. Los IL-2R de β - γ c de afinidad intermedia están presentes en un nivel bajo en los linfocitos CD8⁺ vírgenes, pero son prominentes en los linfocitos T CD8⁺ que sí han tenido contacto con el antígeno (memoria) y de fenotipo de memoria (MP), así como en las células asesinas naturales (NK). Tanto los linfocitos T MPCD8⁺ como las células NK expresan niveles muy altos de IL-2R β y responden fácilmente a la IL-2.

Estudios anteriores han indicado que el SFC está causado por la liberación de citocinas proinflamatorias desde las células NK activadas por IL-2. Sin embargo, un estudio reciente sugirió que el edema pulmonar inducido por IL-2 puede ser el resultado de la unión directa de IL-2 a las células endoteliales de pulmón, que expresan IL-2R de α - β - γ c de alta afinidad funcional. Esto se puso de manifiesto mediante la observación de que la interacción de IL-2 con las células endoteliales de pulmón se anulaba bloqueando el anticuerpo monoclonal (mAb) anti-IL-2R α , en ratones huésped deficientes en IL-2R α , o mediante el uso de un complejo de mAb IL-2/anti-IL-2 (IL-2/mAb) en el que el anticuerpo evita la interacción IL-2/IL-2R α , evitando así el SFC.

Nelson et al., Nature (1994) 369: 333-336 es un estudio en el que los autores prepararon moléculas de la cadena del receptor quimérico para demostrar que las cadenas IL-2R β y IL-2R γ son responsables de la señalización mediada por el receptor IL-2R α / β / γ c. Ellery et al., Cellular Signalling (2000) 12: 367-373 desvelan que la unión de IL-2 al receptor IL-2R α / β / γ c causa la heterodimerización de IL-2R β y las cadenas γ comunes, y que esto es necesario y suficiente para causar la activación del receptor y la transducción de señales.

Dutcher et al., J Immunother Cancer (2014) 2(1):26 se refiere a una terapia con dosis altas de IL-2 y mejor práctica para la administración segura y el control de la toxicidad.

60 Spiess et al., Molecular Immunology (2015) 67: 95-106 desvela formatos de anticuerpos biespecíficos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, que se unen a CD122 y/o a la cadena γ común (γ c). También se desvelan polipéptidos de cadena pesada y ligera para CD122 y anticuerpos de unión a la cadena γ común (γ c). Los anticuerpos, los fragmentos de unión a antígeno y los polipéptidos pueden

proporcionarse en forma aislada y/o purificada y pueden formularse en composiciones adecuadas para su uso en investigación, terapia y diagnóstico.

5 En un primer aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122 y a la cadena γ común (γc) como se define en las reivindicaciones.

También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122, que comprende las secuencias de aminoácidos i) a vi):

10

i)	LC-CDR1:	TGTSSDIGX ₁ YDFX ₂ S	(SEQ ID NO:85)
		RAGQAISWLA	(SEQ ID NO: 6);
		QASQDIGNYLN	(SEQ ID NO: 10); o
		TRSSGSIASNYVQ	(SEQ ID NO: 14);
ii)	LC-CDR2:	DX ₃ NNRX ₄ S	(SEQ ID NO: 86);
		KASNLES	(SEQ ID NO: 7);
		DASNLET	(SEQ ID NO: 11); o
		DDNQRPT	(SEQ ID NO: 15);
iii)	LC-CDR3:	SAYTSSDTX ₅ V	(SEQ ID NO: 87);
		QQYQSYPT	(SEQ ID NO: 8);
		LQLYDYPLT	(SEQ ID NO: 12); o
		QSSHSTAVV	(SEQ ID NO: 16);
iv)	HC-CDR1:	NYYX ₆ H	(SEQ ID NO: 88);
		TYAMH	(SEQ ID NO: 40);
		SYAMS	(SEQ ID NO: 44); o
		GYYS	(SEQ ID NO: 48);
v)	HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO: 37);
		WINTGNGNTKYSQNFQG	(SEQ ID NO: 41);
		AISGSGGSTYYADSVKG	(SEQ ID NO: 45); o
		EINHSGSTNYPNLSLKS	(SEQ ID NO: 49);
vi)	HC-CDR3:	GEYYDSSGYYX ₇	(SEQ ID NO: 89);
		DLGQLERLYFW	(SEQ ID NO: 42);
		DLGDY	(SEQ ID NO: 46); o
		SSSGDAFD	(SEQ ID NO: 50);

o una variante de las mismas en la que uno o dos o tres aminoácidos en una o más de las secuencias i) a vi) se reemplazan con otro aminoácido, en la que X₁ = H o D; X₂ = V o I; X₃ = I, N o F; X₄ = P o A; X₅ = L o V; X₆ = M o I; y X₇ = Y o N.

15

En algunas realizaciones, LC-CDR1 es una de TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2), TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18), TGTSSDIGHYDFIS (SEQ ID NO:25), RAGQAISWLA (SEQ ID NO:6), QASQDIGNYLN (SEQ ID NO:10) o TRSSGSIASNYVQ (SEQ ID NO:14).

20

En algunas realizaciones, LC-CDR2 es una de DINNRPS (SEQ ID NO:3), DNNNRPS (SEQ ID NO:20), DFNNRPS (SEQ ID NO:26), DINNRAS (SEQ ID NO:32), KASNLES (SEQ ID NO:7), DASNLET (SEQ ID NO:11) o DDNQRPT (SEQ ID NO:15).

25

En algunas realizaciones, LC-CDR3 es una de SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4), SAYTSSDTVV (SEQ ID NO:22), QQYQSYPT (SEQ ID NO:8), LQLYDYPLT (SEQ ID NO:12) o QSSHSTAVV (SEQ ID NO:16).

En algunas realizaciones, HC-CDR1 es una de NYIMH (SEQ ID NO:36), NYIHH (SEQ ID NO:54), TYAMH (SEQ ID NO:40), SYAMS (SEQ ID NO:44) o GYYWS (SEQ ID NO:48).

30

En algunas realizaciones, HC-CDR2 es una de AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37), WINTGNGNTKYSQNFQG (SEQ ID NO:41), AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:45) o EINHSGSTNYPNLSLKS (SEQ ID NO:49).

35

En algunas realizaciones, HC-CDR3 es una de GEYYDSSGYYY (SEQ ID NO:38), GEYYDSSGYYN (SEQ ID NO:52), DLGQLERLYFW (SEQ ID NO:42), DLGDY (SEQ ID NO:46) o SSSGDAFD (SEQ ID NO:50).

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

40

LC-CDR1:	TGTSSDIGHYDFVS	(SEQ ID NO:2)
LC-CDR2:	DINNRPS	(SEQ ID NO:3)

LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4).

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

5
LC-CDR1: TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

10
LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DNNRPS (SEQ ID NO:20)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4).

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

15
LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

20
LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFIS (SEQ ID NO:25)
LC-CDR2: DFNNRPS (SEQ ID NO:26)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4).

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

25
LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DNNRPS (SEQ ID NO:20)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

30
LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DNNRAS (SEQ ID NO:32)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

35
LC-CDR1: TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

40
LC-CDR1: RAGQAISWLA (SEQ ID NO:6)
LC-CDR2: KASNLES (SEQ ID NO:7)
LC-CDR3: QQYQSYPT (SEQ ID NO:8).

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1:	QASQDIGNYLN	(SEQ ID NO:10)
LC-CDR2:	DASNLET	(SEQ ID NO:11)
LC-CDR3:	LQLYDYPLT	(SEQ ID NO:12)

5

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1:	TRSSGSIASNYVQ	(SEQ ID NO:14)
LC-CDR2:	DDNQRPT	(SEQ ID NO:15)
LC-CDR3:	QSSHSTAVV	(SEQ ID NO:16)

10

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

15

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

20

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYDSSGYYN	(SEQ ID NO:52)

25

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	NYYIH	(SEQ ID NO:54)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

30

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	TYAMH	(SEQ ID NO:40)
HC-CDR2:	WINTGNGNTKYSQNFQG	(SEQ ID NO:41)
HC-CDR3:	DLGQLERLYFW	(SEQ ID NO:42)

35

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	SYAMS	(SEQ ID NO:44)
HC-CDR2:	AISGSGGSTYYADSVKG	(SEQ ID NO:45)
HC-CDR3:	DLGDY	(SEQ ID NO:46)

40

En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada

que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	GYYSWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYPNLSKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SSSGDAFD	(SEQ ID NO:50)

5 También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122, que comprende una secuencia de la región variable de cadena ligera y de cadena pesada, en el que:

10 la cadena ligera comprende una LC-CDR1, LC-CDR2, LC-CDR3, que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia global con la LC-CDR1: una de TGTSSDIGX₁YDFX₂S (SEQ ID NO:85), RAGQAISWLA (SEQ ID NO:6); QASQDIGNYLN (SEQ ID NO:10); o TRSSGSIASNYVQ (SEQ ID NO:14); LC-CDR2: una de DX₃NNRX₄S (SEQ ID NO:86); KASNLES (SEQ ID NO:7); DASNLET (SEQ ID NO:11); o DDNQRPT (SEQ ID NO:15); LC-CDR3: una de SAYTSSDTX₅V (SEQ ID NO:87); QQYQSYPT (SEQ ID NO:8); LQLYDYPLT (SEQ ID NO:12); o QSSHSTAVV (SEQ ID NO:16); y

15 la cadena pesada comprende una HC-CDR1, HC-CDR2, HC-CDR3, que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia global con la HC-CDR1: una de NYX₆H (SEQ ID NO:88); TYAMH (SEQ ID NO:40); SYAMS (SEQ ID NO:44); o GYYWS (SEQ ID NO:48); HC-CDR2: una de AIMPSSRGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37); WINTGNGNTKYSQNFQG (SEQ ID NO:41); AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:45); o EINHSGSTNYPNLSKS (SEQ ID NO:49); HC-CDR3: una de GEYYDSSGYYX₇ (SEQ ID NO:89); DLGQLERLYFW (SEQ ID NO:42); DLGDY (SEQ ID NO:46); o SSSGDAFD (SEQ ID NO:50);
20 en la que X₁ = H o D; X₂ = V o I; X₃ = I, N o F; X₄ = P o A; X₅ = L o V; X₆ = M o I; y X₇ = Y o N.

En algunas realizaciones, el grado de identidad de secuencia puede ser uno de 86 %, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %.

25 También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122, que comprende una secuencia de la región variable de cadena ligera y de cadena pesada, en el que:

30 la secuencia de la cadena ligera tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena ligera de una de las SEQ ID NO: 1, 17, 19, 21, 23, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 148, 149, 5, 9 o 13 (Figura 1), y;
la secuencia de la cadena pesada tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena pesada de una de las SEQ ID NO: 35, 51, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 150, 151, 39, 43 o 47 (Figura 2).

35 En algunas realizaciones, el grado de identidad de secuencia puede ser uno de 86 %, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %.

40 También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122, que es un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno que comprende (i) un fragmento de unión a antígeno según la presente divulgación y (ii) un fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a la cadena γ común (γ c).

45 También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a la cadena γ común (γ c), que comprende las secuencias de aminoácidos i) a vi):

i)	LC-CDR1:	RSSQSLLHSNGYNYLD	(SEQ ID NO: 68); o
		SGDALPKQFAF	(SEQ ID NO: 72);
ii)	LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO: 69); o
		KDTERPS	(SEQ ID NO: 73);
iii)	LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO: 70); o
		QSPDSSGTVEV	(SEQ ID NO: 74);
iv)	HC-CDR1:	GYYSWS	(SEQ ID NO: 48); o
		SSSYWG	(SEQ ID NO: 79);
v)	HC-CDR2:	EINH ₈ GSTNYPNLSKS	(SEQ ID NO: 90); o
		SIYYSGSTYNNPSLK	(SEQ ID NO: 80);
vi)	HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO: 77); o
		DILTYALDY	(SEQ ID NO: 81);

o una variante de las mismas en la que uno o dos o tres aminoácidos en una o más de las secuencias i) a vi) se reemplazan con otro aminoácido, en las que X₈ = S o F.

50 En algunas realizaciones, LC-CDR1 es RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:68) o SGDALPKQFAF (SEQ ID

NO:72).

En algunas realizaciones, LC-CDR2 es LGSNRDS (SEQ ID NO:69) o KDTERPS (SEQ ID NO:73).

5 En algunas realizaciones, LC-CDR3 es MQGTHWPWT(SEQ ID NO:70) o QSPDSSGTVEV (SEQ ID NO:74).

En algunas realizaciones, HC-CDR1 es GYYWS (SEQ ID NO:48) o SSSYYWG (SEQ ID NO:79).

10 En algunas realizaciones, HC-CDR2 es una de EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:49), EINHFGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:83) o SIYYSGSTYYNPSLK (SEQ ID NO:80).

En algunas realizaciones, HC-CDR3 es SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77) o DILTYALDY (SEQ ID NO:81).

15 En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1:	RSSQSLHNSGNYLD	(SEQ ID NO:68)
LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO:69)
LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO:70)

20 En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena ligera aislado, que tiene al menos una región variable de cadena ligera que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1:	SGDALPKQFAF	(SEQ ID NO:72)
LC-CDR2:	KDTERPS	(SEQ ID NO:73)
LC-CDR3:	QSPDSSGTVEV	(SEQ ID NO:74)

25 En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	GYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77).

30 En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	GYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHFGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:83)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77).

35 En algunas realizaciones de acuerdo con diversos aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento, o un polipéptido de cadena pesada aislado, que tiene al menos una región variable de cadena pesada que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1:	SSSYYWG	(SEQ ID NO:79)
HC-CDR2:	SIYYSGSTYYNPSLK	(SEQ ID NO:80)
HC-CDR3:	DILTYALDY	(SEQ ID NO:81).

40 También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado que es capaz de unirse a la cadena y común (yc), que comprende una secuencia de la región variable de cadena ligera y de cadena pesada, en el que:

45 la cadena ligera comprende una LC-CDR1, LC-CDR2, LC-CDR3, que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia global con la LC-CDR1: RSSQSLHNSGNYLD (SEQ ID NO:68) o SGDALPKQFAF (SEQ ID NO:72); LC-CDR2: LGSNRDS (SEQ ID NO:69) o KDTERPS (SEQ ID NO:73); LC-CDR3: MQGTHWPWT (SEQ ID NO:70) o QSPDSSGTVEV (SEQ ID NO:74); y
la cadena pesada comprende una HC-CDR1, HC-CDR2, HC-CDR3, que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia global con la HC-CDR1: GYWS (SEQ ID NO:48) o SSSYYWG (SEQ ID NO:79); HC-CDR2: EINH₈GSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:90) o SIYYSGSTYYNPSLK (SEQ ID NO:80); HC-CDR3: SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77) o DILTYALDY (SEQ ID NO:81);
50 en las que X₈ = S o F.

En algunas realizaciones, el grado de identidad de secuencia puede ser uno de 86 %, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %.

También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a la cadena γ y común (γc), que comprende una secuencia de la región variable de cadena ligera y de cadena pesada, en el que:

la secuencia de la cadena ligera tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena ligera de una de las SEC ID NO: 67, 152, 71 o 75 (Figura 3), y;

la secuencia de la cadena pesada tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena pesada de una de las SEC ID NO: 76, 153, 78, 82 u 84 (Figura 4).

En algunas realizaciones, el grado de identidad de secuencia puede ser uno de 86 %, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %.

También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a la cadena γ y común (γc), que es un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno que comprende (i) un fragmento de unión a antígeno según la presente divulgación y (ii) un fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a CD122.

También se desvela en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a la cadena γ y común (γc) y CD122, que comprende:

(i) un fragmento de unión a antígeno de unión a γc de acuerdo con la presente divulgación; y

(ii) un fragmento de unión a antígeno de unión a CD122 de acuerdo con la presente divulgación.

También se divulga en el presente documento un complejo *in vitro*, opcionalmente aislado, que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con la presente divulgación unido a CD122, opcionalmente, en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno está unido a la cadena γ y común (γc).

También se divulga en el presente documento un complejo *in vitro*, opcionalmente aislado, que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con la presente divulgación unido a la cadena γ y común (γc), opcionalmente, en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno está unido a CD122.

En algunas realizaciones, el fragmento de unión al anticuerpo o antígeno de acuerdo con la presente invención se conjuga con un resto de fármaco o un resto detectable.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un fragmento biespecífico de unión a antígeno según la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una célula que comprende un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la presente invención.

En el presente documento también se desvela una composición que comprende el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR) o célula según la presente invención, y al menos un transportador, excipiente, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado o receptor de antígeno quimérico (CAR) según la presente invención, como se define en las reivindicaciones. Los ácidos nucleicos de la presente divulgación pueden tener una secuencia de una de las SEQ ID NO 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 19, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146 o 147 (Figuras 17 y 18) o una secuencia de codificación que está degenerada como resultado del código genético, o puede tener una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 70 % de identidad, opcionalmente uno de 75 %, 80%, 85%, 86%, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %.

En el presente documento también se desvela un vector que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención.

En el presente documento también se desvela una célula huésped que comprende el vector de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, la célula huésped puede ser eucariótica, o de mamífero, por ejemplo, de ovario de hámster chino (CHO), o de ser humano o puede ser una célula procariota, por ejemplo, *E. coli*.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para producir un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado o receptor de antígeno quimérico (CAR) según la presente invención, que comprende cultivar la célula huésped de acuerdo con la presente invención en condiciones adecuadas para la expresión de un vector que codifica el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado o CAR, y recuperar el anticuerpo, fragmento de

unión a antígeno, conjugado o CAR, y recuperar el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado o CAR.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención para su uso en terapia, o en un procedimiento de tratamiento médico.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención para su uso en el tratamiento del cáncer.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad infecciosa.

En el presente documento también se desvela el uso de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer.

En el presente documento también se desvela el uso de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad infecciosa.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para tratar el cáncer que comprende administrar un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención a un paciente que padece un cáncer.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa que comprende administrar un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención a un paciente que padece una enfermedad infecciosa.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento que comprende poner en contacto, *in vitro*, una muestra que contiene, o que se sospeche que contiene, CD122 y/o cadena γ común (γc) con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención y detectar la formación de un complejo del anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, CAR o célula con CD122 y/o γc .

En el presente documento también se desvela un procedimiento para diagnosticar una enfermedad o afección en un sujeto, comprendiendo el procedimiento poner en contacto, preferentemente *in vitro*, una muestra del sujeto con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención y detectar la formación de un complejo del anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, CAR o célula con CD122 y/o cadena γ común (γc).

En el presente documento también se desvela un procedimiento para seleccionar o estratificar a un sujeto para el tratamiento con un agente dirigido a CD122 y/o cadena γ común (γc), comprendiendo el procedimiento poner en contacto, preferentemente *in vitro*, una muestra del sujeto con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención y detectar la formación de un complejo del anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, CAR o célula con CD122 y/o γc .

En el presente documento también se desvela el uso de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención para la detección de CD122 y/o cadena γ común (γc) *in vitro* o *in vivo*.

En el presente documento también se desvela el uso de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención como un agente de diagnóstico o pronóstico *in vitro* o *in vivo*.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para expandir una población de linfocitos T y/o células NK, en el que los linfocitos T y/o las células NK se ponen en contacto *in vitro* o *ex vivo* con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición de acuerdo con la presente invención.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa o un cáncer en un sujeto, comprendiendo el procedimiento cultivar linfocitos T y/o células NK obtenidas de una muestra de

sangre de un sujeto en presencia de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención para expandir una población de linfocitos T y/o células NK, recoger los linfocitos T y/o células NK expandidos y administrar los linfocitos T y/o células NK expandidos a un sujeto que necesite tratamiento.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa o un cáncer en un sujeto, comprendiendo el procedimiento administrar un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, conjugado, receptor de antígeno quimérico (CAR), célula o composición según la presente invención al sujeto a fin de expandir una población de linfocitos T y/o células NK.

Los siguientes párrafos numerados (párr.) describen otros aspectos de la presente divulgación:

1. Una proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada que comprende:

(i) un primer polipéptido de unión a IL-2R β :

(a) una unidad de unión VL1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, 5, 9 o 13, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL1;

(b) una unidad de unión VH1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 35, 39, 43 o 47, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH1;

(ii) un segundo polipéptido de unión a IL-2R γ :

(c) una unidad de unión VL2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 67 o 71, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL2, y

(d) una unidad de unión VH2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 76 o 78, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH2.

2. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 1, en la que dicho primer polipéptido de unión a IL-2R β y dicho segundo polipéptido de unión a IL-2R γ están unidos por un enlazador peptídico.

3. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 2, en la que dicho enlazador peptídico tiene una longitud de 5-23 aminoácidos.

4. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 1, en la que dicho primer polipéptido de unión a IL-2R β comprende además una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92, y en el que dicho segundo polipéptido de unión a IL-2R γ comprende además una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94.

5. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 4, en la que dichos primer y segundo polipéptidos se encuentran en una interfaz diseñada dentro de los dominios CH3, en el que el primer polipéptido comprende al menos una protuberancia diseñada en dicha interfaz, comprendiendo dicha protuberancia al menos un residuo de contacto alterado y el segundo polipéptido comprende al menos una cavidad diseñada en su interfaz citada, comprendiendo dicha cavidad al menos un residuo de contacto alterado para formar un emparejamiento de la protuberancia en la cavidad.

6. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada, como se define en los párrafos 4 o 5, en la que dichas unidades de unión están unidas a dicha porción Fc por un enlazador.

7. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 6, en la que dicho enlazador tiene 5-23 aminoácidos de longitud.

8. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R como se define en uno cualquiera de los párrafos 4 a 7, que comprende:

(i) un primer polipéptido de unión a IL-2R β :

(a) una unidad de unión VL1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL1;

(b) una unidad de unión VH1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH1;

(c) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92, y

(ii) un segundo polipéptido de unión a IL-2R γ :

(d) una unidad de unión VL2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL2;

(e) una unidad de unión VH2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 76, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH2, y

(f) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94.

9. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 8, en la que dicha proteína de unión tiene una constante de disociación (K_D) a IL-2R β humano de $1,46 \times 10^{-7}$ M y una constante de disociación (K_D) a IL-2R γ humano de $2,09 \times 10^{-8}$ M.

10. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R como se define en uno cualquiera de los párrafos 4 a 7, que comprende:

(i) un primer polipéptido de unión a IL-2R β :

(a) una unidad de unión VL1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL1;

(b) una unidad de unión VH1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH1;

(c) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92, y

(ii) un segundo polipéptido de unión a IL-2R γ :

1(d) una unidad de unión VL2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución de aminoácido, Inserción o supresión en la unidad de unión VL2;

(e) una unidad de unión VH2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 78, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH2, y

(f) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94.

11. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada definida en el párrafo 10, en la que dicha proteína de unión tiene una constante de disociación (K_D) a IL-2R β humano de $1,01 \times 10^{-7}$ M y una constante de disociación (K_D) a IL-2R γ humano de $7,98 \times 10^{-8}$ M.

12. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R como se define en uno cualquiera de los párrafos 4 a 7, que comprende:

(i) un primer polipéptido de unión a IL-2R β :

(a) una unidad de unión VL1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL1;

(b) una unidad de unión VH1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH1;

(c) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 92, y

(ii) un segundo polipéptido de unión a IL-2R γ :

1(d) una unidad de unión VL2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 67, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución de aminoácido, Inserción o supresión en la unidad de unión VL2;

(e) una unidad de unión VH2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 76, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH2, y

(f) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94.

13. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada definida en el párrafo 12, en la que dicha proteína de unión tiene una constante de disociación (K_D) a IL-2R β humano de $1,81 \times 10^{-7}$ M y una constante de disociación (K_D) a IL-2R γ humano de $7,87 \times 10^{-8}$ M.

14. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R como se define en uno cualquiera de los párrafos 4 a 7, que comprende:

(i) un primer polipéptido de unión a IL-2R β :

(a) una unidad de unión VL1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VL1;

(b) una unidad de unión VH1 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH1;

(c) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92, y

(ii) un segundo polipéptido de unión a IL-2R γ :

1(d) una unidad de unión VL2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 67, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución de aminoácido, Inserción o supresión en la unidad de unión VL2;

(e) una unidad de unión VH2 que consiste en una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 76, o una variante de la misma que contiene al menos una sustitución, inserción o delección de aminoácidos en la unidad de unión VH2, y

(f) una porción Fc que comprende un dominio CH3, en el que el dominio CH3 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94.

15. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en el párrafo 14, en la que dicha proteína de unión tiene una constante de disociación (K_D) a IL-2R β humano de $1,28 \times 10^{-7}$ M y una constante de disociación (K_D) a IL-2R γ humano de $3,37 \times 10^{-7}$ M.

16. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada, como se define en cualquiera de los párrafos 1 a 15, en la que el IL-2R es IL-2R humano o de simio.

17. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada, como se define en cualquiera de los párrafos 1 a 16, en la que dicha proteína de unión a antígeno es completamente humana.

18. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada, como se define en cualquiera de los párrafos 1 a 17, en la que dicha proteína de unión comprende además un agente seleccionado del grupo que consiste en una molécula de inmunoadhesión, un agente de imagen, un agente terapéutico y un agente citotóxico.

19. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada del párrafo 18, en la que dicho agente es un agente de imagen seleccionado del grupo que consiste en un radiomarcador, una enzima, un marcador fluorescente, un marcador luminiscente, un marcador bioluminiscente, un marcador magnético y biotina.

20. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada del párrafo 18, en la que dicho agente es un agente terapéutico o citotóxico seleccionado del grupo que consiste en un antimetabolito, un agente alquilante, un antibiótico, un agente antivirico, un factor de crecimiento, una citocina, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, una antraciclina, toxina y un agente apoptótico.

21. La proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada, como se define en cualquiera de los párrafos 1 a 20, en la que dicha proteína de unión es un agonista de IL-2R.

22. Un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa o cáncer en un sujeto, que comprende administrar la proteína de unión a antígeno aislada como se define en uno cualquiera de los párrafos 1 a 21 a un sujeto que necesite dicho tratamiento.

23. El procedimiento como se define en el párrafo 22, en el que el cáncer es melanoma, cáncer de carcinoma renal o cáncer de vejiga.

24. Uso de la proteína de unión a antígeno aislada como se define en uno cualquiera de los párrafos 1 a 21, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad infecciosa o cáncer.

25. El uso como se define en el párrafo 24, en el que el cáncer es melanoma, cáncer de carcinoma renal o cáncer de vejiga.

26. Una composición que comprende la proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en uno cualquiera de los párrafos 1 a 21 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

27. La composición del párrafo 26, que además comprende uno o más agentes terapéuticos.

28. La composición del párrafo 27, en la que dicho uno o más agentes terapéuticos se seleccionan de entre agentes antibióticos, agentes antivíricos, agentes antifúngicos, agentes quimioterapéuticos, inhibidores de molécula pequeña, agentes de inmunoterapia, vacunas, agentes de terapia celular adoptiva, inhibidores del punto de control inmunitario o terapéutica de anticuerpos.

29. Una línea celular aislada que es capaz de producir la proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en uno cualquiera de los párrafos 1 a 21.

30. Un kit que comprende la proteína biespecífica de unión a antígeno IL-2R aislada como se define en uno cualquiera de los párrafos 1 a 21, junto con las instrucciones de uso.

Descripción

La presente divulgación abarca las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de un anticuerpo biespecífico con especificidad para las cadenas β y γ del receptor de interleucina-2 (IL-2R), capaces de estimular las células que expresan las cadenas β - γ del IL-2R de afinidad media y no preferentemente las células que expresan las cadenas α - β - γ del IL-2R de alta afinidad.

La presente divulgación describe el diseño de un agonista de IL-2R independiente de IL-2R α en el que la activación del receptor se logra a través de la heterodimerización de los componentes β - γ_c por anticuerpos biespecíficos (o proteínas bifuncionales) que poseen especificidades anti-IL-2R β (CD122) y anti- γ_c (CD132). El uso de tales moléculas puede transmitir la estimulación inmunitaria deseada mediante la activación de células inmunitarias, particularmente los linfocitos T, sin activación alta y preferente de células que expresan las α - β - γ_c de IL-2R de alta afinidad. Tales moléculas serían útiles como adyuvantes de vacunas.

Se describen secuencias aisladas de nucleótidos y aminoácidos para dos anticuerpos monoclonales completamente humanos que se unen a IL-2R β (CD122) o IL-2R γ_c (CD132).

Se describen secuencias de nucleótidos y aminoácidos del anticuerpo diseñado por ingeniería que muestra especificidad monovalente para IL-2R β y IL-2R γ_c .

Se describen construcciones de anticuerpos biespecíficos que contienen dominios variables derivados de los anticuerpos monoclonales aislados mencionados anteriormente y capaces de unirse tanto a IL-2R β como a IL-2R γ_c .

Se describen proteínas bifuncionales que contienen los dominios de unión de IL-2R β e IL-2R γ_c derivados de las secuencias de los anticuerpos monoclonales aislados mencionados anteriormente.

Se describe un anticuerpo o una proteína bifuncional de unión a IL-2R β / γ_c y que desencadena la fosforilación de STAT5 y/o Akt.

Se describe un anticuerpo o una proteína bifuncional que se une a IL-2R β / γ_c y que no se une IL-2P α / β / γ_c (CD25) con mayor afinidad.

Se describe un anticuerpo o una proteína bifuncional que se une agonísticamente a IL-2P α / β / γ_c y que desencadena la señalización intracelular y que se une de forma antagónica a IL-2P α / β / γ_c (CD25) sin desencadenar señalización intracelular.

Se describe el uso de cualquiera de estas moléculas en el tratamiento de cánceres o enfermedades infecciosas, solo

o en combinación con fármacos anticancerosos o antiinfecciosos.

Anticuerpos

- 5 Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación se unen preferentemente a CD122 (receptor β de interleucina 2 (IL-2R β)) y/o cadena γ común (γ c). En algunas realizaciones, el anticuerpo/fragmento se une a CD122 humano y/o γ c humana. En algunas realizaciones, el anticuerpo/fragmento se une a CD122 de primate no humano y/o a γ c de primate no humano.

- 10 Por "anticuerpo" se incluye un fragmento o derivado del mismo, o un anticuerpo sintético o fragmento de anticuerpo sintético. Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención se pueden proporcionar en forma aislada.

- En vista de las técnicas actuales en relación con la tecnología de los anticuerpos monoclonales, se pueden preparar anticuerpos frente a la mayoría de los antígenos. La porción de unión a antígeno puede ser una parte de un anticuerpo (por ejemplo, un fragmento Fab) o un fragmento sintético de anticuerpo (por ejemplo, un fragmento Fv de una sola cadena [ScFv]). Se pueden preparar anticuerpos monoclonales adecuados frente antígenos seleccionados mediante técnicas conocidas, por ejemplo, las desveladas en "Monoclonal Antibodies: A manual of techniques", H Zola (CRC Press, 1988) y en "Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications", J G R Hurrell (CRC Press, 1982). Los anticuerpos quiméricos se tratan en Neuberger et al (1988, 8º Simposio Internacional sobre biotecnología, parte 2, 792-799).

Los anticuerpos monoclonales (mAb) son útiles en los procedimientos de la invención y son una población homogénea de anticuerpos dirigidos específicamente a un único epítipo en un antígeno.

- 25 También se pueden usar/proporcionar fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos, tales como los fragmentos Fab y Fab₂, así como anticuerpos y fragmentos de anticuerpo modificados genéticamente. Los dominios variable de la cadena pesada (V_H) y variable de la cadena ligera (V_L) del anticuerpo están involucrados en el reconocimiento del antígeno, un hecho reconocido por primera vez por los primeros experimentos de digestión con proteasas. Se obtuvo otra confirmación mediante "humanización" de anticuerpos de roedores. Los dominios variables de origen roedor pueden fusionarse con dominios constantes de origen humano, de modo que el anticuerpo resultante retenga la especificidad antigénica del anticuerpo parental de roedor (Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851-6855).

- 35 Dicha especificidad antigénica es conferida por los dominios variables y es independiente de los dominios constantes, lo que se sabe a partir de experimentos que implica expresión bacteriana de fragmentos de anticuerpos, conteniendo todos ellos uno o más dominios variables. Estas moléculas incluyen moléculas similares a Fab (Better et al (1988) Science 240, 1041); moléculas Fv (Skerra et al (1988) Science 240, 1038); moléculas Fv de una sola cadena (ScFv) en las que los dominios asociados V_H y V_L están unidos a través de un oligopéptido flexible (Bird et al (1988) Science 242, 423; Huston et al (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5879) y anticuerpos de dominio único (dAb) que comprenden dominios V aislados (Ward et al (1989) Nature 341, 544). Una revisión general de las técnicas implicadas en la síntesis de fragmentos de anticuerpos que retienen sus sitios de unión específicos se encuentra en Winter y Milstein (1991) Nature 349, 293-299.

- 45 Por "moléculas ScFv" se hace referencia a moléculas en las que los dominios asociados V_H y V_L están unidos covalentemente, por ejemplo, mediante un oligopéptido flexible.

Los fragmentos de anticuerpos Fab, Fv, ScFv y dAb pueden expresarse y secretarse a partir de *E. coli*, lo que permite la producción fácil de grandes cantidades de dichos fragmentos.

- 50 Los anticuerpos completos y los fragmentos F(ab')₂ son "bivalentes". Por "bivalente", los inventores quieren decir que dichos anticuerpos y fragmentos F(ab')₂ tienen dos sitios de combinación antigénica. Por el contrario, los fragmentos Fab, Fv, ScFv y dAb son monovalentes y solo tienen un sitio de combinación antigénica.

- 55 La presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que es capaz de unirse a CD122 y γ c, como se define en las reivindicaciones. En algunas realizaciones, el anticuerpo/fragmento es un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el anticuerpo biespecífico o fragmento biespecífico de unión a antígeno puede aislarse.

- 60 En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos y fragmentos de unión a antígeno biespecíficos comprenden un anticuerpo/fragmento que es capaz de unirse a CD122, por ejemplo, un anticuerpo/fragmento como se describe en el presente documento.

- 65 En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos y fragmentos de unión a antígeno biespecíficos comprenden un anticuerpo/fragmento que es capaz de unirse a γ c, por ejemplo, un anticuerpo/fragmento como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, los anticuerpos/fragmentos biespecíficos comprenden un anticuerpo/fragmento capaz de unirse a CD122, y un anticuerpo/fragmento capaz de unirse a otra proteína diana.

5 En algunas realizaciones, los anticuerpos/fragmentos biespecíficos comprenden un anticuerpo/fragmento capaz de unirse a γ c, y un anticuerpo/fragmento capaz de unirse a otra proteína diana.

El fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a otra proteína diana puede ser capaz de unirse a otra proteína distinta de CD122 o γ c.

10 En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un anticuerpo biespecífico, que se une a γ c pero no se une a CD122.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo/fragmento biespecífico según la presente divulgación puede ser cualquier fragmento de un polipéptido que sea capaz de unirse a un antígeno.

15 En algunas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno comprende al menos las tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena ligera (es decir, LC-CDR1, LC-CDR2 y LC-CDR3) y tres CDR de la cadena pesada (es decir, HC-CDR1, HC-CDR2 y HC-CDR3) que, juntas, definen la región de unión a antígeno de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno puede comprender el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno puede comprender el polipéptido de cadena ligera y el polipéptido de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.

25 Los anticuerpos y fragmentos biespecíficos de acuerdo con la invención pueden proporcionarse en cualquier formato adecuado, tales como los formatos descritos en Kontermann MABs 2012, 4 (2): 182-197. Por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno puede ser un conjugado de anticuerpo biespecífico (por ejemplo, IgG2, F(ab')₂ o CovX-Body), una IgG biespecífica o molécula similar a IgG (por ejemplo, una IgG, scFv₄-Ig, IgG-scFv, scFv-IgG, DVD-Ig, IgG-sVD, sVD-IgG, 2 en 1-IgG, mAb², o LC común de tándemab), una IgG o molécula similar a IgG biespecífica asimétrica (por ejemplo, una kih IgG, LC común de kih IgG, CrossMab, kih IgG-scFab, mAb-Fv, par de carga o SEED-body), una molécula de anticuerpo biespecífico pequeña (por ejemplo, un diacuerpo (Db), dsDb, DART, scDb, tandAbs, scFv tándem (taFv), dAb tándem/VHH, triacuerpo, cabeza triple, Fab-scFv o F(ab')₂-scFv₂), una proteína de fusión y Fc biespecífica y C_H3 (por ejemplo, un taFv-Fc, di-diacuerpo, scDb-C_H3, scFv-Fc-scFv, HCAb-VHH, scFv-kih-Fc o scFv-kih-C_H3), o una proteína biespecífica de fusión (por ejemplo, una scFv₂-albúmina, scDb-albúmina, taFv-toxina, DNL-Fab₃, DNL-Fab₄-IgG, DNL-Fab₄-IgG-citocina₂). Véase en particular la Figura 2 de Kontermann MABs 2012, 4 (2): 182-19.

En algunas realizaciones, se prefiere un formato de dímero scFv en el que dos scFv, exhibiendo cada uno una unión específica para un antígeno diferente, están conectados por un enlazador, por ejemplo, como se ilustra en la Figura 25A, a la derecha.

40 Un enlazador puede ser una secuencia de aminoácidos de cualquier longitud deseada, por ejemplo, uno de 2 a 50 aminoácidos, 5 a 50 aminoácidos, 5 a 40 aminoácidos, 5 a 30 aminoácidos, 5 a 20 aminoácidos o 5 a 10 aminoácidos.

45 El experto en la materia puede diseñar y preparar anticuerpos biespecíficos y fragmentos de unión a antígeno biespecíficos de acuerdo con la presente invención. Los procedimientos para producir anticuerpos biespecíficos incluyen reticulación química de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, por ejemplo, con enlaces disulfuro reducibles o enlaces tioéter no reducibles, por ejemplo, como se describe en Segal y Bast, 2001. Producción de anticuerpos biespecíficos. Current Protocols in Immunology. 14:IV:2.13:2.13.1-2.13.16. Por ejemplo, Se puede utilizar N-succinimidil-3-(2-piridilditio) -propionato (SPDP) para reticular químicamente, por ejemplo, fragmentos de Fab a través de los grupos SH- de la región bisagra, para crear heterodímeros F(ab)₂ biespecíficos unidos por enlaces disulfuro.

55 Otros procedimientos para producir anticuerpos biespecíficos incluyen la fusión de hibridomas productores de anticuerpos, por ejemplo con polietilenglicol, para producir una célula cuadroma capaz de secretar anticuerpo biespecífico, por ejemplo, como se describe en D. M. y Bast, B. J. 2001. Producción de anticuerpos biespecíficos. Current Protocols in Immunology. 14:IV:2.13:2.13.1-2.13.16.

60 Los anticuerpos biespecíficos y los fragmentos de unión a antígeno biespecíficos de acuerdo con la presente invención también pueden producirse de forma recombinante, mediante expresión de, por ejemplo, una construcción de ácido nucleico que codifica polipéptidos para las moléculas de unión a antígeno, por ejemplo, como se describe en Antibody Engineering: Methods and Protocols, Segunda edición (Humana Press, 2012), en el Capítulo 40: Production of Bispecific Antibodies: Diabodies and Tandem scFv (Hornig y Farber-Schwarz), o French, How to make bispecific antibodies, Methods Mol. Med. 2000; 40:333-339.

65 Por ejemplo, una construcción de ADN que codifica los dominios variables de las cadena ligera y pesada para los

- dos fragmentos de unión a antígeno (es decir, los dominios variables de las cadenas ligera y pesada para el fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a CD122 o $\gamma\epsilon$, y los dominios variables de las cadenas ligera y pesada para el fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a otra proteína diana) e incluir secuencias que codifican un enlazador o dominio de dimerización adecuado entre los fragmentos de unión a antígeno puede prepararse mediante técnicas de clonación molecular. El anticuerpo biespecífico recombinante puede producirse posteriormente mediante la expresión (por ejemplo, *in vitro*) de la construcción en una célula huésped adecuada (por ejemplo, una célula huésped de mamífero) y el anticuerpo biespecífico recombinante expresado puede, por tanto, purificarse opcionalmente.
- Los anticuerpos pueden producirse mediante un proceso de maduración por afinidad en el que se genera un anticuerpo modificado que tiene una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo parental no modificado. Los anticuerpos madurados por afinidad se pueden producir mediante procedimientos conocidos en la materia, por ejemplo, Marks et al., *Rio/Technology* 10:779-783 (1992); Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7):331 0-15 9 (1995); y Hawkins et al, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación pueden exhibir una unión específica a CD122 y/o $\gamma\epsilon$.

- Un anticuerpo que se une específicamente a una molécula objetivo se une, preferentemente, a la diana con mayor afinidad y/o con una duración mayor que la que se une a otras dianas. En algunas realizaciones, los presentes anticuerpos pueden unirse con mayor afinidad a CD122 y/o $\gamma\epsilon$ que a uno o más miembros de la familia de receptores de citocinas de tipo I. En algunas realizaciones, la extensión de la unión de un anticuerpo a una diana no relacionada es menor que aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la diana según se mide, por ejemplo, mediante ELISA, SPR, Interferometría de biomasa o mediante radioinmunoensayo (RIA). Como alternativa, la especificidad de unión se puede reflejar en términos de afinidad de unión donde el anticuerpo anti-CD122 y/o $\gamma\epsilon$ de la presente divulgación se une a CD122 y/o $\gamma\epsilon$ con una K_D que es de al menos 0,1 orden de magnitud (es decir, $0,1 \times 10^n$, donde n es un número entero que representa el orden de magnitud) mayor que la K_D del anticuerpo hacia otra molécula diana. Este puede ser, opcionalmente, uno de al menos 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,5 o 2,0.

- La afinidad de unión de un anticuerpo por su diana se describe a menudo en términos de su constante de disociación (K_D). La afinidad de unión se puede medir por procedimientos conocidos en la técnica, tal como mediante ELISA, resonancia de plasmón superficial (SPR; véase, por ejemplo, Hearty et al., *Methods Mol Biol* (2012) 907: 411-442), interferometría de biomasa (véase, por ejemplo, Lad et al., (2015) *J Biomol Screen* 20 (4): 498-507) o mediante un ensayo de unión a antígeno radiomarcado (RIA) realizado con la versión Fab del anticuerpo y la molécula de antígeno.

- En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación tiene una constante de disociación (K_D) para CD122 de uno de $\leq 1 \times 10^{-6}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 4,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 4 \times 10^{-7}$ M, $\leq 3,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 3 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,9 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,8 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,7 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,6 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,4 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,3 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,2 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 8 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4 \times 10^{-8}$ M o $\leq 2 \times 10^{-8}$ M.

- En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación tiene una K_D para $\gamma\epsilon$ de uno de $\leq 10 \times 10^{-7}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 9,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 9 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8 \times 10^{-8}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 7 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6 \times 10^{-8}$ M, $\leq 5,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4 \times 10^{-8}$ M, $\leq 3,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 3 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2 \times 10^{-8}$ M, $\leq 1,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 1 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8 \times 10^{-9}$ M, $\leq 6 \times 10^{-9}$ M, $\leq 4 \times 10^{-9}$ M o $\leq 2 \times 10^{-9}$ M.

- En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación tiene una K_D para CD122 de uno de $\leq 1 \times 10^{-6}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 4,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 4 \times 10^{-7}$ M, $\leq 3,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 3 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,9 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,8 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,7 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,6 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,4 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,3 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,2 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1,1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 8 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4 \times 10^{-8}$ M o $\leq 2 \times 10^{-8}$ M y una K_D para $\gamma\epsilon$ de uno de $\leq 10 \times 10^{-7}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 1 \times 10^{-7}$ M, $\leq 9,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 9 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8 \times 10^{-8}$ M, $\leq 7,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 7 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 6 \times 10^{-8}$ M, $\leq 5,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 4 \times 10^{-8}$ M, $\leq 3,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 3 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2 \times 10^{-8}$ M, $\leq 1,5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 1 \times 10^{-8}$ M, $\leq 8 \times 10^{-9}$ M, $\leq 6 \times 10^{-9}$ M, $\leq 4 \times 10^{-9}$ M o $\leq 2 \times 10^{-9}$ M.

- En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente invención se une a CD122 y/o $\gamma\epsilon$ expresado en la superficie celular de una célula que expresa CD122 y/o $\gamma\epsilon$. Dicha unión se puede analizar mediante el análisis de la unión del anticuerpo a las PBMC incubadas con el anticuerpo o las células transfectadas con construcciones que expresan CD122 y/o $\gamma\epsilon$, y el consiguiente análisis de unión del anticuerpo, por ejemplo, mediante citometría de flujo.

- En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente invención es un agonista de una o más vías de señalización que se activan por transducción de señales a través de receptores que comprenden CD122 y/o $\gamma\epsilon$, por

ejemplo, receptor de IL-2 y/o receptor de IL-15. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la señalización a través de uno o más complejos de receptores inmunitarios que comprenden CD122 y/o γc , por ejemplo, receptor de IL-2 y/o receptor de IL-15.

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un agonista del receptor de IL-2. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de activar la señalización mediada por IL-2/receptor de IL-2 y las funciones asociadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de promover la división/proliferación/supervivencia celular de una célula que expresa el receptor de IL-2.

10 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un agonista del receptor de IL-15. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de activar la señalización mediada por IL-15/receptor de IL-15 y las funciones asociadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de promover la división/proliferación/supervivencia celular de una célula que expresa el receptor de IL-15.

15 En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos de acuerdo con la presente invención pueden unirse, preferentemente (por ejemplo, con mayor afinidad y/o especificidad), a los receptores que comprenden o consisten en CD122 y γc en comparación con los receptores que además comprenden CD25. Los anticuerpos biespecíficos pueden estimular, preferentemente, receptores (o células que expresan receptores) que comprenden o consisten en CD122 y γc , pero que no comprenden además CD25.

20 En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos de acuerdo con la presente invención que se unen a CD122 y γc preferentemente no muestran una inhibición significativa de la unión del ligando a receptores que tienen la cadena gamma común y que no contienen CD122, por ejemplo, receptores distintos de IL-2R e IL-15R. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos de acuerdo con la presente invención pueden ser específicos para receptores que comprenden tanto CD122 como γc sobre receptores que comprenden γc pero no comprenden CD122.

25 En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente invención es capaz de estimular la señalización mediada por CD122: γc a través de una o más de las siguientes vías de señalización intracelular: STAT5, Akt, ERK. la señalización a través de las vías de señalización intracelular STAT5, Akt, ERK se pueden analizar mediante procedimientos bien conocidos por los expertos, tal como, por ejemplo, mediante detección de STAT5 fosforilado, Akt fosforilada y ERK opcionalmente fosforilada, respectivamente, después de la estimulación de células que expresan CD122 y/o γc con el anticuerpo.

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente invención es un estimulante menos potente de la señalización intracelular en linfocitos Treg que IL-2. Por ejemplo, el tratamiento con el anticuerpo puede resultar en una menor fosforilación de STAT5 en comparación con el tratamiento con IL-2.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células inmunitarias *in vitro* y/o *in vivo*. La estimulación de la proliferación da como resultado un aumento en el número de tipos de células cuya proliferación se estimula, eficaz para lograr la expansión de la población celular. Por ejemplo, el anticuerpo es útil para estimular la proliferación y/o expansión de los leucocitos *in vitro* o *in vivo*, preferentemente exhibiendo una toxicidad reducida en comparación con los efectos de una cantidad correspondiente de IL-2.

40 En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células dependientes de IL-2. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD3+ (por ejemplo, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+) y/o células NK.

45 Si un anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células puede analizarse *in vitro* mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, tal como mediante el análisis del número de un tipo de célula dado antes y después de la estimulación, y/o mediante otro ensayo, tal como la incorporación de timidina, dilución con CFSE (por ejemplo, como se describe en Anthony et al., 2012 Cells 1:127-140), señal de azul Alamar etc.

50 En algunas realizaciones, el anticuerpo de acuerdo con la presente invención es capaz de unirse a CD122 y/o γc de primates no humanos (por ejemplo, macaco cinomolgo). El anticuerpo puede presentar reacción cruzada para CD122 y/o γc de primates humanos y no humanos. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la señalización mediada por IL-2/receptor de IL-2 y/o IL-15 /receptor de IL-15 en células que expresan CD122 y/o γc de primates no humanos (por ejemplo, macaco cinomolgo).

55 En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD3+. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD4+. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD8+.

60 En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de aumentar la proporción de linfocitos T CD8+ a linfocitos T CD4+. Es decir, en algunas realizaciones, después de la estimulación (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*) de una población de células que comprenden linfocitos T CD8+ y linfocitos T CD4+, la proporción de linfocitos T

CD8+ a linfocitos T CD4+ puede ser mayor después de la estimulación en comparación con la estimulación anterior.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención no es un estimulador potente de la proliferación de células CD4+ FoxP3+ (es decir, Treg). En algunas realizaciones, el anticuerpo no estimula la proliferación de Treg.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la invención estimula la proliferación de Treg en menor medida que la IL-2. Es decir, en algunas realizaciones, el anticuerpo de la invención es un agonista de la proliferación de Treg menos potente que la IL-2. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la divulgación estimula la proliferación de Treg hasta un punto que es ≤ 1 veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,1$ veces el nivel de proliferación de Treg estimulados por el tratamiento con IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención estimula preferentemente la proliferación de la subpoblación de linfocitos T CD8+ de memoria efectora sobre las poblaciones de linfocitos T CD8+ de memoria central y las poblaciones de linfocitos T CD8+ vírgenes.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente divulgación estimula la proliferación de linfocitos T CD8+ de memoria efectora en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T específicos de antígeno, por ejemplo, linfocitos T CD8+ específicos de antígeno y/o linfocitos T CD4+ específicos de antígeno. La estimulación se puede producir *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T citotóxicos (CTL) CD8+ específicos de antígeno. La capacidad de las células para estimular la proliferación de linfocitos T específicos de antígeno se puede evaluar, por ejemplo, mediante análisis de la proliferación de linfocitos T incubados con células que presentan un antígeno de interés en presencia del anticuerpo, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos 8 y 11 en el presente documento.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente divulgación es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T específicos de antígeno en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente divulgación es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD8+ específicos de antígeno en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de aumentar la proporción de linfocitos T CD8+ específicos de antígeno a linfocitos T CD4+. Esto se puede producir *in vitro* o *in vivo*. Es decir, en algunas realizaciones, después de la estimulación (por ejemplo, *in vitro*) de una población de células que comprenden linfocitos T CD8+ y linfocitos T CD4+ específicos de antígeno, la proporción de linfocitos T CD8+ a linfocitos T CD4+ es mayor después de la estimulación en comparación con antes de la estimulación. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la divulgación es capaz de aumentar la proporción de linfocitos T CD8+ a linfocitos T CD4+ específicos de antígeno en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD8+PD1+ (por ejemplo, linfocitos T CD8+PD1+ específicos de antígeno). En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente divulgación es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD8+ PD1 + en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de reducir la proporción de Treg como una proporción de linfocitos T CD4+. Es decir, en algunas realizaciones, después del tratamiento de una población de linfocitos T CD4+ con el anticuerpo, el porcentaje de linfocitos T CD4+ que son Treg se reduce. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente divulgación es capaz de reducir la proporción de Treg como una proporción de linfocitos T CD4+ en mayor medida que la IL-2 a una concentración comparable, en un ensayo dado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es capaz de estimular la citotoxicidad de los CTL. La capacidad de un anticuerpo para estimular la citotoxicidad de los CTL se puede medir mediante procedimientos conocidos por el experto en la técnica. La citotoxicidad de un linfocito T a una célula diana dada se puede investigar, por ejemplo, usando cualquiera de los procedimientos revisados en Zaritskaya et al. Expert Rev Vaccines (2011), 9(6):601-616.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células inmunitarias *in vivo*. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células CD3+ *in vivo*. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD8+ *in vivo*. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de linfocitos T CD4+ *in vivo*. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de estimular la proliferación de células NK *in vivo*.

En aspectos y realizaciones de la presente divulgación, la estimulación o expansión de células que tienen características deseadas se puede producir *in vitro* o *in vivo*. La estimulación o expansión *in vitro* puede proporcionar

una población de células enriquecidas para las características deseadas que se pueden recolectar y usar para un propósito deseado, que puede incluir la administración a un sujeto. La estimulación o expansión *in vivo* puede enriquecer una población de células que son beneficiosas para el sujeto, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de una enfermedad. La estimulación o expansión *in vivo* puede tener un efecto o acción adyuvante.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo de la presente invención comprende el anticuerpo/fragmento de un clon de anticuerpo de unión a CD122. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4 o una variante de P2C4. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_A4 o una variante de P2C4_A4. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_B1
10 o una variante de P2C4_B1. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_B5 o una variante de P2C4_B5. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_C1 o una variante de P2C4_C1. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_C4 o una variante de P2C4_C4. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_C7 o una variante de P2C4_C7. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_D10 o una variante de P2C4_D10. En algunos aspectos, el anticuerpo
15 comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E6 o una variante de P2C4_E6. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E7 o una variante de P2C4_E7. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_F8 o una variante de P2C4_F8. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_C1 D10 o una variante de P2C4_C1 D10. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_FW2 o una variante de P2C4_FW2. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2H7 o una variante de P2H7. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2D12 o una variante de P2D12. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1G11 o una variante de P1G11. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_A9 o una variante de P2C4_A9. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_B6 o una variante de P2C4_B6. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E9 o una variante de P2C4_E9. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_B8 o una variante de P2C4_B8. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_B12 o una variante de P2C4_B12. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_C12 o una variante de P2C4_C12. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E2 o una variante de P2C4_E2. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E3 o una variante de P2C4_E3. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_E8 o una variante de P2C4_E8. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_F11 o una variante de P2C4_F11. En algunos
35 aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_G2 o una variante de P2C4_G2. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_G11 o una variante de P2C4_G11. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_H1 o una variante de P2C4_H1. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_H2 o una variante de P2C4_H2. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2C4_H3 o una variante de P2C4_H3.

Las secuencias de aminoácidos de los dominios VL de los clones de anticuerpos de unión a CD122 del párrafo anterior se muestran en la Figura 1, así como las CDR definidas de acuerdo con el sistema de Kabat. Las secuencias de aminoácidos de los dominios VH de los clones de anticuerpos de unión a CD122 del párrafo anterior se muestran en la Figura 2, así como las CDR definidas de acuerdo con el sistema de Kabat. Las secuencias de aminoácidos completas de las construcciones de anticuerpos (incluidos los enlazadores) se muestran en la Figura 15 y las secuencias de nucleótidos codificantes se muestran en la Figura 17.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación pueden comprender las CDR de P2C4, P2C4_A4, P2C4_B1, P2C4_B5, P2C4_C1, P2C4_C4, P2C4_C7, P2C4_D10, P2C4_E6, P2C4_E7, P2C4_F8, P2C4_C1D10, P2C4_FW2, P2H7, P2D12, P1G11, P2C4_A9, P2C4_B6, P2C4_E9, P2C4_B8, P2C4_B12, P2C4_C12, P2C4_E2, P2C4_E3, P2C4_E8, P2C4_F11, P2C4_G2, P2C4_G11, P2C4_H1, P2C4_H2 o P2C4_H3. En un anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación, una o dos o tres o cuatro de las seis secuencias de CDR pueden variar. Una variante puede tener una o dos sustituciones de aminoácidos en una o dos de las seis secuencias de CDR.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación pueden comprender cadenas VL y/o VH que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene un alto porcentaje de identidad de secuencia con una o más de las secuencias de aminoácidos de VL y/o VH mostradas en las Figuras 1 y 2, respectivamente. Por ejemplo, los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen anticuerpos que se unen a CD122 y tienen una cadena VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 %, más preferentemente uno de al menos un 75 %, 80%, 85%, 86%, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la cadena VL de una de las SEQ ID NO: 1, 17, 19, 21, 23, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 148, 149, 5, 9 o 13 como se muestra en la Figura 1. Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen anticuerpos que se unen a CD122 y tienen una cadena VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 %, más preferentemente uno de al menos un 75 %, 80%, 85%, 86%, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %, de

identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la cadena VH de una de las SEQ ID NO: 35, 51, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 150, 151, 39, 43 o 47 como se muestra en la Figura 2.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen un anticuerpo o un fragmento de unión a CD122 del mismo que tiene la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140 o 141 mostradas en la Figura 17. Los anticuerpos de la presente divulgación incluyen un anticuerpo que comprende la secuencia de dominio VL y/o VH de una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140 o 141 mostradas en la Figura 17.

En algunos aspectos, el anticuerpo de la presente invención comprende el anticuerpo/fragmento de un clon de anticuerpo de unión a yc. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3 o una variante de P1A3. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3_B3 o una variante de P1A3_B3. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3_E8 o una variante de P1A3_E8. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3_E9 o una variante de P1A3_E9. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3_B4 o una variante de P1A3_B4. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P1A3_FW2 o una variante de P1A3_FW2. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende el anticuerpo/fragmento del clon P2B9 o una variante de P2B9.

Las secuencias de aminoácidos de los dominios VL de los clones de anticuerpos de unión a yc del párrafo anterior se muestran en la Figura 3, así como las CDR definidas de acuerdo con el sistema de Kabat. Las secuencias de aminoácidos de los dominios VH de los clones de anticuerpos de unión a yc del párrafo anterior se muestran en la Figura 4, así como las CDR definidas de acuerdo con el sistema de Kabat. Las secuencias de aminoácidos completas de las construcciones de anticuerpos (incluidos los enlazadores) se muestran en la Figura 16 y las secuencias de nucleótidos codificantes se muestran en la Figura 18.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación pueden comprender las CDR de P1A3, P1A3_B3, P1A3_E8, P1A3_E9, P1A3_B4, P1A3_FW2 o P2B9. En un anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación, una o dos o tres o cuatro de las seis secuencias de CDR pueden variar. Una variante puede tener una o dos sustituciones de aminoácidos en una o dos de las seis secuencias de CDR.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación pueden comprender cadenas VL y/o VH que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene un alto porcentaje de identidad de secuencia con una o más de las secuencias de aminoácidos de VL y/o VH mostradas en las Figuras 3 y 4, respectivamente. Por ejemplo, los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen anticuerpos que se unen a yc y tienen una cadena VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 %, más preferentemente uno de al menos un 75 %, 80%, 85%, 86%, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la cadena VL de una de las SEQ ID NO: 67, 152, 71 o 75 como se muestra en la Figura 3. Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen anticuerpos que se unen a yc y tienen una cadena VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 %, más preferentemente uno de al menos un 75 %, 80%, 85%, 86%, 87 %, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 %, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la cadena VH de una de las SEQ ID NO: 76, 153, 78, 82 u 84 como se muestra en la Figura 4.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación incluyen un anticuerpo o un fragmento de unión a yc que tiene la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 142, 143, 144, 145, 146 o 147 mostrada en la Figura 18. Los anticuerpos de la presente divulgación incluyen un anticuerpo que comprende la secuencia de dominio de VL y/o VH de una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 142, 143, 144, 145, 146, o 147 mostradas en la Figura 18.

El anticuerpo de la presente invención comprende el anticuerpo/fragmento de un clon de anticuerpo de unión a CD122, por ejemplo, un clon de anticuerpo de unión a CD122 como se describe, y también comprende un clon de unión a yc, por ejemplo, un clon de unión a yc como se describe en el presente documento, como se define en las reivindicaciones.

Las CDR de las cadenas ligera y pesada desveladas en el presente documento también pueden ser particularmente útiles en combinación con varias regiones marco diferentes. Por consiguiente, las cadenas ligera y/o pesada que tienen LC-CDR1-3 o HC-CDR1-3 pueden poseer una región marco alternativa. Las regiones marco adecuadas son bien conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en M. Lefranc y G. Le: franc (2001) "The Immunoglobulin FactsBook", Academic Press.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención pueden estar marcados de forma detectable o, por lo menos, se pueden detectar. Por ejemplo, el anticuerpo puede estar marcado con un átomo radiactivo o una molécula coloreada o una molécula fluorescente o una molécula que puede detectarse fácilmente de cualquier otra forma. Las

moléculas detectables adecuadas incluyen proteínas fluorescentes, luciferasa, sustratos enzimáticos y radiomarcadores. El resto de unión puede marcarse directamente con un marcador detectable o puede marcarse indirectamente. Por ejemplo, el resto de unión puede ser un anticuerpo no marcado que puede ser detectado por otro anticuerpo que está marcado él mismo. Como alternativa, el segundo anticuerpo puede haberse unido a la biotina y la unión de la estreptavidina marcada a la biotina se usa para marcar indirectamente el primer anticuerpo.

Receptores de antígenos quiméricos

La presente invención proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) capaz de unirse a CD122 y/o γc como se define en las reivindicaciones. Los CAR de acuerdo con la presente divulgación comprenden uno o más fragmentos de unión a antígeno o polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación.

Los receptores de antígeno quiméricos (CAR) son receptores recombinantes que proporcionan funciones de unión a antígeno y de activación de linfocitos T. La estructura y la ingeniería de CAR se revisa, por ejemplo, en Dotti et al., Immunol Rev (2014) 257 (1).

Los fragmentos de unión a antígeno de acuerdo con la presente invención se proporcionan en el presente documento como el dominio de unión a antígeno de un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas realizaciones, el CAR comprende un dominio VL y un dominio VH de acuerdo con cualquier realización de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido descrito en el presente documento. Por consiguiente, el antígeno unido por el CAR de acuerdo con la presente invención es CD122 y/o γc .

Los CAR se pueden combinar con ligandos coestimuladores, los receptores coestimuladores quiméricos o citocinas para aumentar aún más la potencia de los linfocitos T, la especificidad y la seguridad (Sadelain et al., The basic principles of chimeric antigen receptor (CAR) design. Cancer Discov. 2013 April; 3(4): 388-398. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0548).

La presente invención también proporciona una célula que comprende un CAR según la invención, como se define en las reivindicaciones. El CAR de acuerdo con la presente invención se puede usar para generar linfocitos T dirigidos a células que expresan CD122 y/o γc .

La ingeniería de CAR en linfocitos T puede realizarse durante el cultivo, *in vitro*, para la transducción y la expansión, tal como sucede durante la expansión de los linfocitos T para la terapia adoptiva de linfocitos T. La transducción puede utilizar diversos procedimientos, pero se requiere una transferencia de genes estable para permitir la expresión sostenida de CAR en linfocitos T persistentes y en expansión clonal.

Un CAR normalmente combina un dominio de unión a antígeno con un dominio intracelular de la cadena CD3-zeta o proteína Fc γ RI en una única proteína quimérica. Las características estructurales de un CAR están descritas en Sjouke et al., (The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. Nature Reviews Drug Discovery, 14, 499 509 (2015) doi:10.1038/nrd4597). Un CAR normalmente tiene un dominio de unión a antígeno extracelular unido a un dominio transmembrana y un endodominio. Un dominio opcional de bisagra o espaciador puede proporcionar separación entre el resto de unión y el dominio transmembrana y puede actuar como un enlazador flexible.

De acuerdo con la presente divulgación, el dominio de reconocimiento de antígenos del CAR es, o deriva de, un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido que es capaz de unirse a CD122 y/o γc , como se describe en el presente documento.

Las regiones de bisagra o espaciadoras del CAR pueden ser dominios flexibles que permiten que el resto de unión se oriente en diferentes direcciones. Las regiones bisagra o espaciadoras pueden derivar de IgG1 o la región CH2CH3 de la inmunoglobulina.

Los dominios transmembrana pueden ser hélices alfa hidrófobas que atraviesan la membrana celular. El dominio transmembrana asociado con el endodominio se usa habitualmente.

El endodominio es responsable de la agrupación/dimerización del receptor después de la unión del antígeno y del inicio de la transducción de señales a la célula. Un dominio transmembrana de uso común es el dominio transmembrana CD3-zeta y el endodominio. Los dominios intracelulares de uno o más receptores de proteínas coestimulantes, tales como CD28 4-1BB, OX40, ICOS, pueden incorporarse opcionalmente en la cola citoplásmica del CAR para proporcionar una señalización coestimulante adicional, que puede ser beneficiosa en términos de actividad antitumoral.

En una realización, un CAR comprende un dominio extracelular que tiene un dominio de reconocimiento de antígeno, un dominio transmembrana y un dominio citoplásmico. Se puede usar un dominio transmembrana que está asociado naturalmente con uno de los dominios en el CAR o el dominio transmembrana puede seleccionarse o modificarse mediante la sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios

transmembrana de las mismas proteínas de membrana de la superficie o de otras diferentes para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor.

El dominio citoplásmico puede diseñarse para que comprenda el dominio de señalización CD28 y/o 4-1BB por sí mismo o puede combinarse con cualquier otro u otros dominios citoplasmáticos deseados. El dominio citoplasmático puede diseñarse para comprender además el dominio de señalización de CD3-zeta. Por ejemplo, el dominio citoplasmático del CAR puede incluir, entre otros, CD3-zeta, módulos de señalización 4-1BB y CD28 y combinaciones de los mismos.

La presente divulgación también proporciona linfocitos T del CAR que comprenden como CAR un fragmento de unión a antígeno capaz de unirse a CD122 y/o γc , de acuerdo con la presente divulgación.

Los linfocitos CAR T de la divulgación pueden generarse introduciendo un vector lentiviral *in vitro* que comprende un CAR deseado, por ejemplo, un CAR que comprende anti-IL2R $\beta/\gamma c$, bisagra de CD8a y dominio transmembrana, y dominios de señalización humanos 4-1BB y CD3zeta, en las células. Los linfocitos CAR T de la divulgación pueden replicarse *in vivo*, dando como resultado una persistencia a largo plazo que puede conducir a un control sostenido del tumor.

En una realización, la divulgación se refiere a la administración de un linfocito T modificado genéticamente que expresa un CAR capaz de unirse a CD122 y/o γc para el tratamiento de un paciente con cáncer o con riesgo de tener cáncer o una enfermedad infecciosa utilizando infusión de linfocitos. Preferentemente, En el tratamiento se utiliza infusión autóloga de linfocitos. Las PBMC autólogas se recogen de un paciente que necesita tratamiento y los linfocitos T se activan y expanden utilizando los procedimientos descritos en el presente documento y conocidos en la técnica y luego se infunden de nuevo en el paciente.

Procedimientos de detección

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos que implican la unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno a CD122 y/o γc . Tales procedimientos pueden implicar la detección del complejo unido de anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, y CD122 y/o γc . Como tal, en una realización se proporciona un procedimiento, comprendiendo el procedimiento poner en contacto una muestra que contiene, o se sospecha que contiene, CD122 y/o γc con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno como se describe en el presente documento y detectar la formación de un complejo de anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, y CD122 y/o γc .

Los formatos de procedimientos adecuados son bien conocidos en la técnica, incluyendo inmunoensayos tales como ensayos de tipo sándwich, por ejemplo, ELISA. El procedimiento puede implicar el marcaje del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, o CD122 y/o γc , o ambos, con un marcador detectable, por ejemplo, fluorescente, luminiscente o radiomarcador. La expresión de CD122 y/o γc se puede medir mediante inmunohistoquímica (IHC), por ejemplo, de una muestra de tejido obtenida por biopsia.

Los procedimientos de este tipo pueden proporcionar la base de un procedimiento de diagnóstico de una enfermedad o afección que requiera detección y/o cuantificación de CD122 y/o γc . Dichos procedimientos pueden realizarse *in vitro* en una muestra de paciente, o después del procesamiento de una muestra de paciente. Una vez recogida la muestra, no se requiere que el paciente esté presente para realizar el procedimiento de diagnóstico *in vitro* y, por lo tanto, el procedimiento puede ser uno que no se practica en el cuerpo humano o animal.

Tales procedimientos pueden implicar la determinación de la cantidad de CD122 y/o γc presente en una muestra de paciente. El procedimiento puede comprender además comparar la cantidad determinada con un valor estándar o de referencia como parte del proceso para llegar a un diagnóstico. Se pueden usar otras pruebas de diagnóstico junto con las que se describen en el presente documento para mejorar la precisión del diagnóstico o pronóstico o para confirmar un resultado obtenido al usar las pruebas que se describen en el presente documento.

El nivel de CD122 y/o γc presente en una muestra de paciente puede ser indicativo de que un paciente puede responder al tratamiento con un anticuerpo anti-CD122 y/o anti- γc . La presencia de un alto nivel de CD122 y/o γc en una muestra puede usarse para seleccionar a un paciente para el tratamiento con un anticuerpo anti-CD122 y/o anti- γc . Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse, por lo tanto, para seleccionar a un paciente para el tratamiento con terapia con anticuerpos anti-CD122 y/o anti- γc .

La detección en una muestra de anticuerpo anti-CD122 y/o anti- γc puede usarse para diagnosticar una enfermedad infecciosa, trastorno autoinmune o una afección cancerosa en el paciente, diagnóstico de la predisposición a la enfermedad infecciosa, trastorno autoinmune o una afección cancerosa o para proporcionar un pronóstico (pronosticar) de una enfermedad infecciosa, trastorno autoinmune o una afección cancerosa. El diagnóstico o pronóstico puede estar relacionado con una enfermedad infecciosa existente (previamente diagnosticada), trastorno autoinmune o afección cancerosa.

Se puede tomar una muestra de cualquier tejido o fluido corporal. La muestra puede comprender o puede derivarse de: una cantidad de sangre; una cantidad de suero derivado de la sangre del individuo que puede comprender la porción fluida de la sangre obtenida después de la eliminación del coágulo de fibrina y las células sanguíneas; una muestra de tejido o biopsia; o células aisladas de dicho individuo.

5 Los procedimientos de acuerdo con la presente invención pueden realizarse preferentemente *in vitro*. El término "*in vitro*" pretende abarcar experimentos con células en cultivo, mientras que el término "*in vivo*" pretende abarcar experimentos con y/o tratamiento de organismos multicelulares intactos.

10 Aplicaciones terapéuticas

Anticuerpos, Los fragmentos de unión a antígeno y los polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación y las composiciones que comprenden dichos agentes pueden proporcionarse para uso en procedimientos de tratamiento médico. El tratamiento puede proporcionarse a sujetos que tienen una enfermedad o afección que necesita

15 tratamiento.

Los procedimientos de tratamiento médico pueden incluir el tratamiento del cáncer mediante un procedimiento para mejorar, tratar o prevenir una neoplasia maligna en un sujeto humano en el que las etapas del procedimiento ayudan o refuerzan el sistema inmunológico para erradicar las células cancerosas. Tales procedimientos pueden incluir la

20 administración de células, anticuerpos, proteínas o ácidos nucleicos de acuerdo con la presente divulgación que invocan una respuesta inmune activa (o logran una respuesta pasiva) para destruir células cancerosas. Los procedimientos de tratamiento pueden incluir opcionalmente la administración conjunta de adyuvantes biológicos (por ejemplo, interleucinas, citocinas, bacilo de Calmette-Guerin, monofosforil lípido A, etc.) en combinación con terapias convencionales para tratar el cáncer como la quimioterapia, radiación o cirugía. Los procedimientos de

25 tratamiento pueden implicar administrar una composición de acuerdo con la presente divulgación como una vacuna que funciona activando el sistema inmunitario para prevenir o destruir el crecimiento de células cancerosas. Los procedimientos de tratamiento médico también pueden implicar *in vivo*, *ex vivo*, e inmunoterapias adoptivas, incluyendo aquellos que usan células autólogas y/o heterólogas o líneas celulares inmortalizadas.

30 La enfermedad o afección puede ser una enfermedad infecciosa, un trastorno autoinmune (por ejemplo, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple), un cáncer, una enfermedad inflamatoria (por ejemplo, artritis), una enfermedad/trastorno asociado con una señalización deficiente mediada por IL-2 y/o una señalización mediada por IL-15, proliferación deficiente de linfocitos T o disfunción de linfocitos T.

35 En algunas realizaciones, el tratamiento es de una enfermedad o trastorno para el cual el aumento de la señalización mediada por IL-2 y/o la señalización mediada por IL-15 es terapéutico.

En algunas realizaciones, el tratamiento es de una enfermedad o trastorno asociado con una respuesta deficiente de linfocitos T, por ejemplo, una respuesta deficiente de linfocitos T CD8+.

40 El tratamiento puede estar dirigido a prevenir o tratar una enfermedad/trastorno por uno o más de los siguientes: aumentando el número de linfocitos T CD3+, aumentando el número de linfocitos T CD4+, aumentando el número de linfocitos T CD8+, aumentando el número de linfocitos T efectoriales CD8+ (por ejemplo, CTL), aumentando el número de células NK, aumentando la proporción de linfocitos T CD8+ a linfocitos T CD4+, o disminuyendo la proporción de

45 Treg.

El trastorno disfuncional de los linfocitos T puede manifestarse como una infección, o incapacidad para montar una respuesta inmunitaria eficaz contra una infección. La infección puede ser crónica, persistente, latente o lenta, y puede ser el resultado de una infección bacteriana, vírica, micótica o parasitaria. Como tal, se puede proporcionar

50 tratamiento a los pacientes que tienen una infección bacteriana, vírica o micótica. Los ejemplos de infecciones bacterianas incluyen la infección por *Helicobacter pylori*. Ejemplos de infecciones virales incluyen infección con EBV, VIH, hepatitis B o hepatitis C.

El trastorno disfuncional de los linfocitos T puede estar asociado con un cáncer, tales como el escape inmune del tumor. Muchos tumores humanos expresan antígenos asociados a tumores reconocidos por los linfocitos T y capaces de inducir una respuesta inmunitaria.

Los cánceres también pueden tratarse cuando no hay indicios de un trastorno disfuncional de los linfocitos T, pero el uso de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido de acuerdo con la presente divulgación promueve

60 una respuesta inmunitaria eficaz.

El tratamiento puede estar dirigido a la prevención de una enfermedad/trastorno asociado con una señalización deficiente/reducida mediada por IL-2 y/o una señalización deficiente/reducida mediada por IL-15. Como tal, los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno y polipéptidos pueden usarse para formular composiciones

65 farmacéuticas o medicamentos y los sujetos pueden tratarse profilácticamente contra el desarrollo de un estado de enfermedad. Esto puede producirse antes del inicio de los síntomas del estado de la enfermedad, y/o puede darse a

sujetos que se consideran en mayor riesgo de la enfermedad o trastorno.

El tratamiento puede comprender la terapia conjunta con una vacuna, por ejemplo, vacuna de linfocitos T, que puede implicar la terapia simultánea, separada o secuencial, o la administración combinada, de vacuna y anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido en una sola composición. En este contexto, el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido se puede proporcionar como adyuvante de la vacuna.

La administración de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido está preferentemente en una "cantidad terapéuticamente eficaz", que es suficiente para mostrar un beneficio al individuo. La cantidad real administrada y la velocidad y el ciclo de tiempo de administración, dependerá de la naturaleza y gravedad de la enfermedad a tratar. La prescripción del tratamiento, por ejemplo, decisiones sobre la dosificación, etc., pertenecen a la responsabilidad de los médicos de familia y otros facultativos, y normalmente se tiene en cuenta el trastorno a tratar, el estado del paciente individual, el punto de administración, el procedimiento de administración y otros factores conocidos por los facultativos. Los ejemplos de las técnicas y protocolos mencionados anteriormente se pueden hallar en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª edición, 2000, pub. Lippincott, Williams & Wilkins.

Los CAR y células que comprenden los CAR (es decir, los CAR-linfocitos T) de la presente divulgación encuentran utilidad para tratar trastornos autoinmunitarios, por ejemplo, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple. En dichos tratamientos, los CAR-linfocitos T son eficaces para destruir las células agresoras autoinmunes (por ejemplo, linfocitos T autorreactivos) que expresan CD122 y/o $\gamma\epsilon$.

Formulación de composiciones y medicamentos farmacéuticamente útiles

Los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno y polipéptidos, CAR y células de acuerdo con la presente divulgación se pueden formular como composiciones farmacéuticas o medicamentos para uso clínico y pueden comprender un vehículo, diluyente, excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptables.

De acuerdo con la presente divulgación, también se proporcionan procedimientos para la producción de composiciones farmacéuticamente útiles, dichos procedimientos de producción pueden comprender una o más etapas seleccionadas de entre: aislamiento de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, CAR o célula como se describe en el presente documento; y/o mezclar un anticuerpo aislado, fragmento de unión a antígeno, o polipéptido como se describe en el presente documento, con un vehículo, adyuvante, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptables.

Por ejemplo, un aspecto adicional de la presente divulgación se refiere a un procedimiento de formular o producir un medicamento o composición farmacéutica para su uso en un procedimiento de tratamiento médico, comprendiendo el procedimiento formular una composición farmacéutica o medicamento mezclando un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, CAR o célula como se describe en el presente documento con un vehículo, adyuvante, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptables.

Infección

Una infección puede ser cualquier infección o enfermedad infecciosa, por ejemplo, una infección bacteriana, vírica, micótica o parasitaria. En algunas realizaciones, puede ser particularmente deseable tratar infecciones crónicas/persistentes, por ejemplo, donde tales infecciones están asociadas con la disfunción de linfocitos T o agotamiento de linfocitos T.

Está bien establecido que el agotamiento de los linfocitos T es un estado de disfunción de los linfocitos T que surge durante muchas infecciones crónicas (incluidas las víricas, bacterianas y parasitarias), así como en el cáncer (Wherry Nature Immunology Vol. 12, No. 6, p492-499, junio de 2011).

Ejemplos de infecciones bacterianas que pueden tratarse incluyen la infección por *Bacillus spp.*, *Bordetella pertussis*, *Clostridium spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Salmonella*, *Listeria sp.*, *Helicobacter pylori*, micobacterias (por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*) y *Pseudomonas aeruginosa*. Por ejemplo, la infección bacteriana puede ser sepsis o tuberculosis.

Ejemplos de infecciones víricas que pueden tratarse incluyen la infección por el virus de Epstein-Barr, virus de la gripe, virus del sarampión, virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), virus del herpes simple y virus del papiloma humano.

Ejemplos de infecciones micóticas que pueden tratarse incluyen la infección por *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cándida sp.* e *Histoplasma sp.* La infección micótica puede ser sepsis micótica o histoplasmosis. Los ejemplos de infecciones parasitarias que pueden tratarse incluyen la infección por especies de *Plasmodium* (por ejemplo, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium yoeli*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* o *Plasmodium chabaudi chabaudi*). La infección parasitaria puede ser una enfermedad como paludismo, leishmaniasis y toxoplasmosis.

Cáncer

Un cáncer puede ser cualquier proliferación celular no deseada (o cualquier enfermedad que se manifieste por proliferación celular no deseada), neoplasia o tumor o mayor riesgo o predisposición a la proliferación celular no deseada, neoplasia o tumor. El cáncer puede ser benigno o maligno y puede ser primario o secundario (metastásico). Una neoplasia o tumor puede ser cualquier crecimiento o proliferación anormal de células y puede estar localizado en cualquier tejido. Ejemplos de tejidos incluyen la glándula suprarrenal, médula suprarrenal, ano, apéndice, vejiga, sangre, huesos, médula ósea, cerebro, mama, ciego, sistema nervioso central (incluyendo o excluyendo el cerebro) cerebelo, cuello del útero, colon, duodeno, endometrio, células epiteliales (por ejemplo, epitelios renales), vesícula biliar, esófago, células gliales, corazón, íleon, yeyuno, riñón, glándula lagrimal, laringe, hígado, pulmón, linfa, ganglio linfático, linfoblasto, maxilar superior, mediastino, mesenterio, miometrio, nasofaringe, omento, cavidad oral, ovario, páncreas, glándula parótida, sistema nervioso periférico, peritoneo, pleura, próstata, glándulas salivales, colon sigmoide, piel, intestino delgado, tejidos blandos, bazo, estómago, testículos, timo, glándula tiroides, lengua, amígdalas, tráquea, útero, vulva, glóbulos blancos.

Los tumores a tratar pueden ser tumores del sistema nervioso o no nervioso. Los tumores del sistema nervioso pueden originarse en el sistema nervioso central o periférico, por ejemplo, glioma, meduloblastoma, meningioma, neurofibroma, ependimoma, schwannoma, neurofibrosarcoma, astrocitoma y oligodendroglioma. Los cánceres/tumores no del sistema nervioso pueden originarse en cualquier otro tejido no nervioso, ejemplos incluyen melanoma, mesotelioma, linfoma, mieloma, leucemia, linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin, leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico (SMD), linfoma cutáneo de linfocitos T (LCLT), leucemia linfocítica crónica (LLC), hepatoma, carcinoma epidermoide, carcinoma de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma tímico, CPNMC, cáncer hematológico y sarcoma.

En particular, se contempla el tratamiento del melanoma, el cáncer renal (por ejemplo, carcinoma renal) o cáncer de vejiga.

En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer positivo para EBV o HPV.

Terapia de transferencia de célula adoptiva

Generalmente, la terapia de transferencia de célula adoptiva se refiere a un proceso por el que se extraen los glóbulos blancos de un sujeto, normalmente extrayendo una muestra de sangre de la que se separan los glóbulos blancos, se expanden *in vitro* o *ex vivo* y se devuelven al mismo sujeto o a un sujeto diferente. Normalmente, el tratamiento está dirigido a aumentar la cantidad/concentración de una forma activa de la población celular requerida en el sujeto.

Los anticuerpos/fragmentos de la presente invención proporcionan un medio de expansión del número y/o aumento de la actividad de células que expresan CD122 y/o γc . En algunas realizaciones, las células son linfocitos T y/o células NK.

Por consiguiente, en un aspecto adicional de la presente invención se proporciona un procedimiento para expandir una población de células, en la que las células entran en contacto *in vitro* o *ex vivo* con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o composición de acuerdo con la presente invención. En el presente documento también se desvela un procedimiento para expandir una población de células en un sujeto, que comprende administrar un anticuerpo/fragmento de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición de acuerdo con la presente divulgación, a un sujeto.

En algunas realizaciones, los anticuerpos/fragmentos de la presente invención. pueden emitir una señal de supervivencia a las células que expresan CD122 y/o γc . En algunas realizaciones, los anticuerpos/fragmentos son útiles para aumentar/estimular la supervivencia de una célula o población de células (por ejemplo, linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CD8+ (por ejemplo, CTL), linfocitos T CD4+) y/o células NK), por ejemplo, *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*.

Por consiguiente, en el presente documento se divulga un procedimiento para mejorar/promover la supervivencia de una célula o una población de células, en el que las células se ponen en contacto *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo* con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición de acuerdo con la presente divulgación. También se divulga en el presente documento un procedimiento para mejorar/promover la supervivencia de una célula o una población de células en un sujeto, que comprende administrar un anticuerpo/fragmento de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición de acuerdo con la presente divulgación, al sujeto.

Los procedimientos pueden comprender opcionalmente una o más de las siguientes etapas: obtener una muestra de sangre de un sujeto; aislar las células (por ejemplo, uno de PBMC, linfocitos T, células NK etc.) de la muestra de sangre; cultivar las células en cultivo celular *in vitro* o *ex vivo* (donde pueden ponerse en contacto con el anticuerpo,

fragmento de unión a antígeno o polipéptido), recolectar una población expandida de células; mezclar las células con un adyuvante, diluyente o vehículo; administrando las células expandidas a un sujeto.

Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de un sujeto, por ejemplo, un sujeto que tiene un trastorno disfuncional de linfocitos T, comprendiendo el procedimiento obtener una muestra de sangre de un sujeto que necesita tratamiento, cultivar linfocitos T obtenidos de la muestra de sangre en presencia de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición de acuerdo con la presente divulgación, para expandir la población de linfocitos T, recolectar linfocitos T expandidos y administrar los linfocitos T expandidos a un sujeto que necesita tratamiento.

Los linfocitos T pueden obtenerse de un sujeto que requiere tratamiento y pueden aislarse y/o purificarse. Pueden ser una población de linfocitos T CD4+ y/o CD8+. Pueden ser una población CD122+ y/o $\gamma\epsilon$ +

Durante el cultivo, los linfocitos T pueden ponerse en contacto con el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición en condiciones y durante un período de tiempo adecuado para permitir la expansión de los linfocitos T a un número deseado de células. Después de un período de tiempo adecuado, los linfocitos T pueden recogerse, opcionalmente concentrarse y pueden mezclarse con un vehículo, adyuvante o diluyente adecuado y devolverse al cuerpo del sujeto. Un sujeto puede sufrir una o más rondas de dicha terapia.

Los procedimientos de expansión de linfocitos T son bien conocidos en la técnica, como los descritas en Kalamasz et al., J Immunother 2004 Sep-Oct; 27(5):405-18; Montes et al., Clin Exp Immunol 2005 Nov;142(2):292-302; Wöfl y Greenburg Nature Protocols 9 p950-966 27 March 2014; Trickett y Kwan Journal of Immunological Methods Vol. 275, Números 1-2, 1 de abril de 2003, pp. 251-255; Butler et al PLoS ONE 7(1) 12 Jan 2012.

Administración simultánea o secuencial

Las composiciones pueden administrarse solas o en combinación con otros tratamientos, de forma simultánea o secuencial dependiendo de la afección a tratar.

En esta memoria descriptiva un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, CAR, célula o composición de la presente divulgación y un agente antiinfeccioso o agente quimioterapéutico (agente terapéutico) pueden administrarse simultánea o secuencialmente.

En algunas realizaciones, el tratamiento con un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido de la presente divulgación puede ir acompañado de quimioterapia.

La administración simultánea se refiere a la administración del anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido y agente terapéutico juntos, por ejemplo, como una composición farmacéutica que contiene ambos agentes (preparación combinada), o inmediatamente uno después de otro y, opcionalmente, a través de la misma vía de administración, por ejemplo, a la misma arteria, vena u otro vaso sanguíneo.

La administración secuencial se refiere a la administración de uno de los anticuerpos, fragmento de unión a antígeno o polipéptido o agente terapéutico, seguido después de un intervalo de tiempo dado por administración separada del otro agente. No se requiere que los dos agentes sean administrados por la misma ruta, aunque este es el caso en algunas realizaciones. El intervalo de tiempo puede ser cualquier intervalo de tiempo.

En algunas realizaciones, el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o composición de la presente divulgación, puede administrarse a un paciente que está en tratamiento por transferencia de células adoptivas. La administración puede estar dirigida a estimular la proliferación de las células transferidas de forma adoptiva en el paciente *in vivo*.

Agentes antiinfecciosos

En el tratamiento de infecciones, un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o polipéptido de la presente divulgación se puede administrar en combinación con un agente antiinfeccioso, como se ha descrito anteriormente. El agente antiinfeccioso puede ser un agente conocido por su acción contra el microorganismo o virus responsable de la infección.

Los agentes antiinfecciosos adecuados incluyen antibióticos (tales como penicilinas, cefalosporinas, rifamicinas, lipiarmicinas, quinolonas, sulfonamidas, macrólidos, lincosamidas, tetraciclinas, lipopéptidos cíclicos, gliciliclinas, oxazolidinonas y lipiarmicinas), agentes antivirales (tales como inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores de la integrasa, inhibidores del factor de transcripción, agentes antisentido y ARNip e inhibidores de proteasa), agentes antifúngicos (tales como polienos, imidazoles, triazoles, tiazoles, alilaminas y equinocandinas) y agentes antiparasitarios (tales como agentes antinematodos, agentes anticestodos, agentes antitrepatodos, agentes antiamebianos y agentes antiprotozoarios).

Quimioterapia

La quimioterapia y la radioterapia respectivamente se refieren al tratamiento de un cáncer con un medicamento o con radiación ionizante (por ejemplo, radioterapia con rayos X o rayos γ).

El fármaco puede ser una entidad química, por ejemplo, pequeña molécula farmacéutica, antibiótico, intercalador de ADN, inhibidor de proteínas (por ejemplo, inhibidor de quinasa), o un agente biológico, por ejemplo, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, ácido nucleico o aptámero peptídico, ácido nucleico (por ejemplo, ADN, ARN), péptido, polipéptido o proteína. El fármaco puede formularse como una composición farmacéutica o medicamento. La formulación puede comprender uno o más medicamentos (por ejemplo, uno o más agentes activos), junto con uno o más diluyentes, excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Un tratamiento puede implicar la administración de más de un medicamento. Un medicamento puede administrarse solo o en combinación con otros tratamientos, de forma simultánea o secuencial dependiendo de la afección a tratar. Por ejemplo, la quimioterapia puede ser una terapia conjunta que implique la administración de dos medicamentos, uno o más de los cuales pueden estar destinados a tratar el cáncer.

La quimioterapia puede administrarse mediante una o más vías de administración, por ejemplo, parenteral, inyección intravenosa, oral, subcutánea, intradérmica o intratumoral.

La quimioterapia se puede administrar según un régimen de tratamiento. El régimen de tratamiento puede ser un horario predeterminado, plan, esquema o programa de administración de la quimioterapia que puede preparar un médico o profesional de la medicina y puede ser adaptado para el paciente que requiere tratamiento.

El régimen de tratamiento puede indicar uno o más de: el tipo de quimioterapia a administrar al paciente; la dosis de cada medicamento o radiación; el intervalo de tiempo entre administraciones; la duración de cada tratamiento; el número y la naturaleza de cualquier descanso de tratamiento, en su caso. Para una terapia conjunta, se puede proporcionar un régimen de tratamiento único que indique cómo se administrará cada medicamento.

Los medicamentos quimioterapéuticos y los productos biológicos se pueden seleccionar entre: agentes alquilantes, tales como cisplatino, carboplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, ifosfamida; anti-metabolitos de purina o pirimidina, tales como azatiopurina o mercaptopurina; alcaloides y terpenoides, tales como alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vinorelbina, vindesina), podofilotoxina, etopósido, tenipósido, taxanos tales como paclitaxel (TaxolTM), docetaxel; inhibidores de la topoisomerasa, tales como los inhibidores de la topoisomerasa de tipo I, camptotecinas, irinotecán y topotecán, o los inhibidores de la topoisomerasa de tipo II, amsacrina, etopósido, fosfato de etopósido, tenipósido; antibióticos antitumorales (por ejemplo, antibióticos de antraciclina), tales como dactinomicina, doxorubicina (AdriamycinTM), epirubicina, bleomicina, rapamicina; agentes basados en anticuerpos, tales como anticuerpos anti-PD-1, anticuerpos anti-PD-L1, anticuerpos anti-TIM-3, anti-CTLA-4, anti-4-1BB, anti-GITR, anti-CD27, anti-BLTA, anti-OX43, anti-VEGF, anti-TNF α , anti-IL-2, anti-GpIIb/IIIa, anti-CD-52, anti-CD20, anti-RSV, anti-HER2/neu (erbB2), anti-receptor del TNF, anticuerpos anti-EGFR, anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos, los ejemplos incluyen: cetuximab, panitumumab, infliximab, basiliximab, bevacizumab (Avastin[®]), abciximab, daclizumab, gemtuzumab, alemtuzumab, rituximab (Mabthera[®]), palivizumab, trastuzumab, etanercept, adalimumab, nimotuzumab; inhibidores del EGFR, tal como erlotinib, cetuximab y gefitinib; agentes antiangiogénicos, tal como bevacizumab (Avastin[®]); vacunas contra el cáncer, tal como Sipuleucel-T (Provenge[®]).

En una realización, el agente quimioterapéutico es un anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-PD-L1, anticuerpo anti-TIM-3, anti-LAG-3, anti-CTLA-4, anti-41BB, anti-GITR, anti-CD27, anti-BLTA, anti-OX43, anti-VEGF, anti-TNF α , anti-IL2, anti-GpIIb/IIIa, anti-CD-52, anti-CD20, anti-RSV, anti-HER2/neu (erbB2), anti-receptor del TNF, anti-EGFR u otro anticuerpo. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es un inhibidor del punto de control inmunitario o una molécula de coestimulación.

Otros fármacos quimioterapéuticos pueden seleccionarse de entre: ácido 13-cis-retinoico, 2-clorodesoxiadenosina, 5-azacitidina, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, Abraxane, Accutane[®], actinomicina-D, Adriamycin[®], Aducril[®], Afinitor[®], Agrylin[®], Ala-Cort[®], aldesleukina, Alemtuzumab, ALIMTA, alitretinoína, Alkaban-AQ[®], Alkeran[®], ácido retinoico todo trans, interferón alfa, altretamina, ametofterina, amifostina, aminoglutetimida, anagrelida, Anandron[®], anastrozol, arabinosilcitosina, Aranesp[®], Aredia[®], Arimidex[®], Aromasin[®], Arranon[®], trióxido de arsénico, asparaginasa, ATRA, Avastin[®], azacitidina, BCG, BCNU, bendamustina, bevacizumab, bexaroteno, BEXXAR[®], bicalutamida, BiCNU, Blenoxane[®], bleomicina, bortezomib, busulfán, Busulfex[®], leucovorina calcio, Campath[®], Campsar[®], camptotecina-11, capecitabina, CaracTM, carboplatino, carmustina, Casodex[®], CC-5013, CCI-779, CCNU, CDDP, CeeNU, Cerubidine[®], cetuximab, clorambucilo, cisplatino, factor citrovorum, cladribina, cortisona, Cosmegen[®], CPT-11, ciclofosfamida, Cytadren[®], citarabina, Cytosar-U[®], Cytoxan[®], Dacogen, dactinomicina, darbepoyetina alfa, dasatinib, daunomicina, daunorubicina, clorhidrato de danorubicina, daunorubicina liposomal, DaunoXome[®], Decadron, decitabina, Delta-Cortef[®], Deltasone[®], Denileukin, Diftitox, DepoCytTM, dexametasona, acetato de dexametasona, dexametasona fosfato sódico, dexasona, dexrazoxano, DHAD, DIC, Diodex, docetaxel, Doxil[®], doxorubicina, doxorubicina liposomal, DroloxiaTM, DTIC, DTIC-Dome[®], Duralone[®],

Eligard™, Ellence™, Eloxatin™, Elspar®, Emcyll®, epirubicina, epoyetina alfa, Erbitux, erlotinib, L-asparaginasa de Erwinia, estramustina, etiol Etopophos®, etopósido, fosfato de etopósido, Eulexin®, everolimus, Evista®, exemestano, Faslodex®, Femara®, filgrastim, floxuridina, Fludara®, fludarabina, Fluoroplex®, fluorouracilo, fluoximesterona, flutamida, ácido folínico, FUDR®, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, Gleevec™, Gliadel® Wafer, goserelina, factor estimulador de colonias de granulocitos, factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos, Herceptin®, Hexadrol, Hexalen®, hexametilmelamina, HMM, Hycamtin®, Hydrea®, Hydrocort Acetate®, hidrocortisona, hidrocortisona fosfato de sodio, hidrocortisona succinato de sodio, fosfato de hidrocortisona, hidroxiurea, ibritumomab, ibritumomab tiuxetán, idamycin®, idarubicina, Ifex®, IFN-alfa, ifosfamida, IL-11, IL-2, mesilato de imatinib, imidazol carboxamida, interferón alfa, interferón alfa-2b (conjugado con PEG), interleucina - 2, interleucina-11, Intron A® (interferón alfa-2b), Iressa®, irinotecán, isotretinoína, ixabepilona, Ixempra™, kidrolasa, Lanacort®, lapatinib, L-asparaginasa, LCR, lenalidomida, letrozol, leucovorina, Leukeran, Leukine™, leuprolida, leurocristina, Leustatin™, ara-C liposomal, Liquid Pred®, lomustina, L-PAM, L-sarcolisina, Lupron®, Lupron Depot®, Matulane®, Maxidex, mecloretamina, clorhidrato de mecloretamina, Medralone®, Medrol®, Megace®, megestrol, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, mesna, Mesnex™, metotrexato, metotrexato sódico, metilprednisolona, Meticorten®, mitomicina, mitomicina-C, mitoxantrona, M-Prednisol®, MTC, MTX, Mustargen®, mustina, Mutamycin®, Myleran®, Mylocel™, Mylotarg®, Navelbine®, nelarabina, Neosar®, Neulasta™, Neumega®, Neupogen®, Nexavar®, Nilandron®, nilutamida, Nipent®, mostaza de nitrógeno, Novaldex®, Novantrone®, octreotida, acetato de octreotida, Oncospar®, Oncovin®, Ontak®, Onxal™, oprevelkina, Orapred®, Orasone®, oxaliplatino, paclitaxel, paclitaxel unido a proteína, pamidronato, panitumumab, Panretin®, Paraplatin®, Pediapred®, interferón pegilado, pegaspargasa, pegfilgrastim, PEG-INTRON™, PEG-L-asparaginasa, PEMETREXED, pentostatina, mostaza de fenilalanina, Platino®, Platinol-AQ®, prednisolona, prednisona, Prelone®, procarbazona, PROCIT®, Proleukin®, prolifeptospan 20 con implante de carmustina Purinethol®, raloxifeno, Revlimid®, Rheumatrex®, Rituxan®, rituximab, Roferon-A® (interferón alfa-2a), Rubex®, clorhidrato de rubidomicina, Sandostatin® Sandostatin LAR®, sargramostim, Solu-Cortef®, Solu-Medrol®, sorafenib, SPRYCEL™, STI-571, estreptozocina, SU11248, sunitinib, Sutent®, tamoxifeno, Tarceva®, Targretin®, Taxol®, Taxotere®, Temodar®, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, TESPAs, talidomida, Thalomid®, TheraCys®, tioguanina, Thioguanine Tabloid®, tiofosfoamida, Thioplex®, tiotepa, TICE®, Toposar®, topotecán, toremifeno, Torisel®, tositumomab, trastuzumab, Treanda®, tretinoína, Trexall™, Trisenox®, TSPA, TYKERB®, VCR, Vectibix™, Velban®, Velcade®, VePesid®, Vesanoïd®, Viadur™, Vidaza®, vinblastina, sulfato de vinblastina, Vincasar Pfs®, vincristina, vinorelbina, tartrato de vinorelbina, VLB, VM-26, vorinostat, VP-16, Vumon®, Xeloda®, Zanosar®, Zevalin™, Zinecard®, Zoladex®, ácido zolendrílico, Zolanza, Zometa®.

Vías de administración

Los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno, polipéptidos y otros agentes terapéuticos, medicamentos y composiciones farmacéuticas de acuerdo con los aspectos de la presente divulgación pueden formularse para la administración por varias vías, incluyendo, pero sin limitación, parenteral, intravenosa, intraarterial, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intratumoral y oral. Los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno, polipéptidos y otros agentes terapéuticos, pueden formularse en forma fluida o sólida. Las formulaciones fluidas pueden formularse para su administración por inyección en una región seleccionada del cuerpo humano o animal.

Régimen de dosificación

Se pueden proporcionar múltiples dosis del anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido, CAR, célula, o composición de la divulgación. Una o más, o cada una, de las dosis puede ir acompañada de la administración simultánea o secuencial de otro agente terapéutico.

Las dosis múltiples pueden estar separadas por un intervalo de tiempo predeterminado, que puede seleccionarse de modo que sea uno de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o 31 días, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses. A modo de ejemplo, las dosis se pueden administrar una vez cada 7, 14, 21 o 28 días (más o menos 3, 2 o 1 días).

El anticuerpo de la presente invención tiene una farmacocinética favorable en comparación con la IL-2 como agente terapéutico. Una ventaja del anticuerpo/fragmento de la presente invención es la semivida mejorada *in vivo*, por ejemplo, en la sangre o suero, en comparación con la IL-2, lo que significa que la administración del anticuerpo/fragmento puede ser menos frecuente y/o de una cantidad menor del agente.

Kits

Un kit de partes también se desvela en el presente documento. En algunas realizaciones, el kit puede tener al menos un recipiente que tiene una cantidad predeterminada del anticuerpo, fragmento, polipéptido, CAR, célula o composición. El kit puede proporcionar el anticuerpo, fragmento, polipéptido, CAR o célula en forma de un medicamento o composición farmacéutica, y se puede proporcionar junto con instrucciones para la administración a un paciente para tratar una enfermedad o afección específica. El anticuerpo, fragmento, polipéptido, CAR, célula o composición pueden formularse de modo que sean adecuadas para inyección o infusión en un tumor o en la sangre.

En algunas realizaciones, el kit puede comprender además al menos un recipiente que tiene una cantidad predeterminada de otro agente terapéutico (por ejemplo, agente antiinfeccioso o agente de quimioterapia). En dichas realizaciones, el kit también puede comprender un segundo medicamento o composición farmacéutica, de modo que los dos medicamentos o composiciones farmacéuticas pueden administrarse de forma simultánea o por separado, de manera que proporcionen un tratamiento combinado para la enfermedad o afección específica. El agente terapéutico también puede formularse para que sea adecuado para inyección o infusión en un tumor o en la sangre.

Sujetos

El sujeto a tratar puede ser cualquier animal o ser humano. El sujeto es, preferentemente, mamífero, más preferentemente ser humano. El sujeto puede ser un mamífero no humano, pero es, más preferentemente, humano. El sujeto puede ser hombre o mujer. El sujeto puede ser un paciente. Un sujeto puede haber sido diagnosticado con una enfermedad o afección que requiere tratamiento, o ser sospechoso de tener tal enfermedad o afección.

Expresión de proteínas

Las técnicas de biología molecular adecuadas para la producción del anticuerpo, fragmento, polipéptido o CAR de acuerdo con la divulgación en células, se conocen bien en la materia, tales como las establecidas en Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Nueva York: Cold Spring Harbor Press, 1989

El polipéptido puede expresarse a partir de una secuencia de nucleótidos. La secuencia de nucleótidos puede estar contenida en un vector presente en una célula, o puede incorporarse en el genoma de la célula.

Un "vector" como se usa en el presente documento es una molécula de oligonucleótido (ADN o ARN) utilizada como vehículo para transferir material genético exógeno a una célula. El vector puede ser un vector de expresión para la expresión del material genético en la célula. Dichos vectores pueden incluir una secuencia promotora unida operativamente a la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia del gen a expresar. Un vector también puede incluir un codón de terminación y potenciadores de la expresión. Se puede usar cualquier vector, promotor, potenciador y codón de terminación adecuados conocidos en la técnica para expresar polipéptidos de un vector de acuerdo con la divulgación. Los vectores adecuados incluyen plásmidos, vectores binarios, vectores virales y cromosomas artificiales (por ejemplo, cromosomas artificiales de levadura).

En esta memoria descriptiva, la expresión "unido operativamente" puede incluir la situación en la que una secuencia de nucleótidos seleccionada y una secuencia de nucleótidos reguladora (por ejemplo, un promotor y/o un potenciador) están unidas covalentemente de tal manera que se coloca la expresión de la secuencia de nucleótidos bajo la influencia o control de la secuencia reguladora (formando así un casete de expresión). Por lo tanto, una secuencia reguladora está unida operativamente a la secuencia de nucleótidos seleccionada si la secuencia reguladora es capaz de efectuar la transcripción de la secuencia de nucleótidos. Cuando sea adecuado, la transcripción resultante puede traducirse luego a una proteína o polipéptido deseado.

De acuerdo con la divulgación, puede usarse cualquier célula adecuada para la expresión de polipéptidos para producir péptidos. La célula puede ser un procariota o eucariota. Las células procariotas adecuadas incluyen *E. coli*. Ejemplos de células eucariotas incluyen una célula de levadura, una célula vegetal, célula de insecto o célula de mamífero. En algunos casos, la célula no es una célula procariota porque algunas células procarióticas no permiten las mismas modificaciones postraduccionales que los eucariotas. Además, son posibles niveles de expresión muy altos en eucariotas y las proteínas pueden ser más fáciles de purificar a partir de eucariotas usando marcadores adecuados. También se pueden utilizar plásmidos específicos que mejoren la secreción de la proteína en el medio.

Los procedimientos para producir un polipéptido de interés pueden implicar el cultivo o la fermentación de una célula modificada para expresar el polipéptido. El cultivo o la fermentación se puede realizar en un biorreactor provisto de un suministro apropiado de nutrientes, aire/oxígeno y/o factores de crecimiento. Las proteínas secretadas se pueden recolectar mediante la división de medios de cultivo/caldo de fermentación de las células, extraer el contenido de proteínas y separar proteínas individuales para aislar polipéptidos secretados. Los expertos en la materia conocen bien las técnicas de cultivo, fermentación y separación.

Los biorreactores incluyen uno o más vasos en los que se pueden cultivar células. El cultivo en el biorreactor se puede realizar de forma continua, con un flujo continuo de reactivos hacia y un flujo continuo de células cultivadas desde, el reactor. Como alternativa, el cultivo puede realizarse en lotes. El biorreactor monitoriza y controla las condiciones ambientales, tales como el pH, el oxígeno, los caudales hacia dentro y hacia fuera, y la agitación dentro del recipiente, de manera que se proporcionan condiciones óptimas para las células que se están cultivando.

Siguiendo el cultivo de células que expresan el polipéptido de interés, ese polipéptido está preferentemente aislado. Se puede usar cualquier procedimiento adecuado para separar polipéptidos/proteínas del cultivo celular conocido en la técnica. Para aislar un polipéptido/proteína de interés de un cultivo, puede ser necesario separar primero las células cultivadas de los medios que contienen el polipéptido/proteína de interés. Si el polipéptido/proteína de interés es secretado por las células, las células se pueden separar del medio de cultivo que contiene el polipéptido/proteína

secretado por centrifugación. Si el polipéptido/proteína de interés se acumula dentro de la célula, será necesario romper las células antes de la centrifugación, por ejemplo, utilizando ultrasonidos, congelación-descongelación rápida o lisis osmótica. La centrifugación producirá un sedimento que contiene las células cultivadas, o residuos celulares de las células cultivadas, y un sobrenadante que contiene el medio de cultivo y el polipéptido/proteína de interés.

Por tanto, puede ser deseable aislar el polipéptido/proteína de interés del sobrenadante o medio de cultivo, que pueden contener otras proteínas y componentes no proteicos. Un enfoque común para separar los componentes polipéptido/proteína de un sobrenadante o medio de cultivo es mediante precipitación. Los polipéptidos/proteínas de diferente solubilidad se precipitan a diferentes concentraciones de agente precipitante, tal como sulfato de amonio. Por ejemplo, a bajas concentraciones de agente precipitante, se extraen proteínas solubles en agua. Por tanto, añadiendo concentraciones crecientes de agente precipitante, se pueden distinguir proteínas de diferente solubilidad. La diálisis se puede usar posteriormente para eliminar el sulfato de amonio de las proteínas separadas.

Otros procedimientos para distinguir diferentes polipéptidos/proteínas son conocidos en la técnica, por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía por tamaño. Estos pueden usarse como una alternativa a la precipitación o pueden realizarse posteriormente a la precipitación.

Una vez que el polipéptido/proteína de interés se ha aislado del cultivo, puede ser necesario concentrar la proteína. En la técnica se conocen varios procedimientos para concentrar una proteína de interés, tal como ultrafiltración o liofilización.

Identidad de secuencia

La alineación con el propósito de determinar el porcentaje de aminoácidos o la identidad de secuencia de nucleótidos se puede lograr de varias maneras conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, utilizando software informático disponible públicamente como ClustalW 1.82. Software T-coffee o Megalign (DNASTAR). Cuando se utiliza dicho software, los parámetros por defecto, por ejemplo, para penalización por hueco y penalización por extensión, se utilizan preferentemente. Los parámetros por defecto de ClustalW 1.82 son: penalización de apertura de hueco de proteína= 10,0, penalización de extensión de hueco de proteína= 0,2, matriz de proteínas = Gonnet, Proteína/ADN ENDGAP = -1, Proteína/ADN GAPDIST = 4.

La divulgación contempla la combinación de los aspectos y características preferidas descritas, excepto cuando dicha combinación es claramente inadmisibles o se evita expresamente.

Los encabezados de sección usados en el presente documento tienen fines organizativos solamente, y no deben considerarse como limitantes de la materia objeto descrita.

A continuación se ilustrarán los aspectos y realizaciones de la presente invención, a modo de ejemplo, haciendo referencia a las figuras adjuntas. Otros aspectos y realizaciones serán evidentes para los expertos en la técnica.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones que la siguen, a no ser que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprende" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros indicados o etapas, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros.

Debe destacarse que, como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno", "una", y "el" o "la", incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Los intervalos pueden expresarse en el presente documento a partir de "aproximadamente" un valor particular, y/o de "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa dicho intervalo, otra realización incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, por el uso del antecedente "aproximadamente" se entenderá que el valor particular constituye otra realización.

Breve descripción de las figuras

Las realizaciones y experimentos que ilustran los principios de la invención se discutirán ahora con referencia a las figuras adjuntas, en las que:

Figura 1. Secuencias de dominio variable de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-IL-2R β . Las CDR están subrayadas y se muestran por separado.

Figura 2. Secuencias de dominio variable de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-IL-2R β . Las CDR están subrayadas y se muestran por separado.

Figura 3. Secuencias de dominio variable de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-yc. Las CDR están

subrayadas y se muestran por separado.

Figura 4. Secuencias de dominio variable de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-yc. Las CDR están subrayadas y se muestran por separado.

Figura 5. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-IL-2R β .

Figura 6. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-IL-2R β .

Figura 7. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-yc.

Figura 8. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-yc.

Figura 9. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-IL-2R β derivados de P2C4.

Figura 10. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-IL-2R β derivados de P2C4.

Figura 11. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena ligera para clones de anticuerpos anti-yc derivados de P1A3.

Figura 12. Tabla que muestra las secuencias de CDR de cadena pesada para clones de anticuerpos anti-yc derivados de P1A3.

Figura 13. Secuencias de los dominios CH2 y CH3 para el clon de anticuerpo anti-IL-2R β P2C4.

Figura 14. Secuencias de los dominios CH2 y CH3 para el clon de anticuerpo anti-yc P1A3.

Figura 15. Secuencias de aminoácidos para clones de anticuerpos anti-IL-2R β . Los dominios V_H se muestran subrayados. Los enlazadores (GGGS)₃ (y sus variantes) se muestran en **negrita**. Los dominios V_L se muestran con subrayado doble. Los enlazadores cortos están en **cursiva y en negrita**. Las bisagras se muestran en *cursiva*. Los dominios CH2 se muestran con un subrayado discontinuo. Los dominios CH3 se muestran subrayados con guiones subrayados.

Figura 16. Secuencias de aminoácidos para clones de anticuerpos anti-yc. Los dominios V_H se muestran subrayados. Los enlazadores (GGGS)₃ (y sus variantes) se muestran en **negrita**. Los dominios V_L se muestran con subrayado doble. Los enlazadores cortos están en **cursiva y en negrita**. Las bisagras se muestran en *cursiva*. Los dominios CH2 se muestran con un subrayado discontinuo. Los dominios CH3 se muestran subrayados con guiones subrayados.

Figura 17. Secuencias de nucleótidos para clones de anticuerpos anti-IL-2R β .

Figura 18. Secuencias de nucleótidos para clones de anticuerpos anti-yc.

Figura 19. Representación esquemática del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc.

Figura 20. Sensorigramas que muestran la unión del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc a (A) IL-2R β humano y (B) yc humano según lo determinado por análisis de resonancia de plasmón superficial.

Figura 21. Histogramas que muestran la unión de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (**A**) a células que expresan (y células de control que no expresan) IL-2R β /yc, y (**B**) a PBMC, determinado por citometría de flujo.

Figura 22. Histogramas que muestran la inducción de la señalización mediada por STAT5, Akt y ERK mediante tratamiento de las células NK92 con IL-2 o anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc *in vitro*, determinado por citometría de flujo.

Figura 23. Gráficos que muestran el porcentaje de fosforilación de STAT5 en respuesta al tratamiento con IL-2 o anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc *in vitro* para diferentes subpoblaciones de células inmunitarias diferentes, determinado por citometría de flujo.

Figura 24. Gráfico que muestra la proliferación de células NK92 dependiente de IL-2 en respuesta al tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc o anticuerpos de control que exhiben especificidad solo por IL-2R β o yc.

Figura 25. Gráficos y esquemas que muestran los resultados del análisis de la longitud del enlazador sobre la

unión por el anticuerpo anti-IL-2R β /yc. (A) Representación esquemática del anticuerpo y los formatos de scFv y enlazadores (los enlazadores se muestran en cursiva). (B) Gráfico que muestra proliferación de células NK92 en respuesta al tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc que comprende enlazadores de diferente longitud. (C) Gráfico que muestra proliferación de células NK92 en respuesta al tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc en formato bis-scFv, que comprende enlazadores de longitud diferente.

Figura 26. Histogramas que muestran la inducción de la señalización mediada por STAT5, en esplenocitos de macaco cinomolgo mediante tratamiento con IL-2 o anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc *in vitro*, determinado por citometría de flujo.

Figura 27. Gráficos que muestran los números de linfocitos T y las proporciones luego del cultivo de PBMC durante 1 semana en presencia de IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2). (A) células CD3+, (B) células CD4+, (C) células CD8+ y (D) la proporción de células CD8+ a CD4+.

Figura 28. Gráfico que muestra el porcentaje de Treg después del cultivo de PBMC durante 1 semana en presencia de IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2).

Figura 29. Gráfico que muestra las subpoblaciones de linfocitos T CD8+ como un porcentaje de células CD8+ después del cultivo de PBMC durante 1 semana en presencia de IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2). Para cada subpoblación, de izquierda a derecha, los puntos de datos son: IL-2 200 ng/ml, Mega2 3ug/ml, Mega2 1ug/ml, Mega2 0,3ug/ml, Mega2 0,3ug/ml y CD3/28.

Figura 30. Gráficos que muestran el número de linfocitos T y las proporciones después del cultivo de PBMC de un donante seropositivo para el EBV en presencia de EBV-LCL e IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2). (A) células CD3+, (B) células CD4+, (C) células CD8+ y (D) la proporción de células CD8+ a CD4+.

Figura 31. Gráficos que muestran las subpoblaciones de linfocitos T después del cultivo de PBMC de un donante seropositivo para el EBV en presencia de EBV-LCL e IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2). (A) Subpoblaciones de linfocitos T CD8+ como un porcentaje de células CD8+. Para cada subpoblación, de izquierda a derecha, los puntos de datos son: IL-2 200 ng/ml, Mega2 3ug/ml, Mega2 1ug/ml, Mega2 0,3ug/ml, Mega2 0,3ug/ml y CD3/28. (B) células CD8+PD1+ como porcentaje de células CD8+ y (C) Treg como porcentaje de células CD4+.

Figura 32. Gráfico que muestra la citotoxicidad de los CTL después del cultivo de PBMC de un donante seropositivo para el EBV en presencia de EBV-LCL e IL-2 humana recombinante o la cantidad indicada de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Mega2).

Figura 33. Gráficos de barras que muestran la termoestabilidad de los clones de la familia P1A3. Unión de P1A3 y los clones mutados (A) B4 y E9 y (B) B3 y E8 a yc antes y después de tratamiento térmico. Se muestra la media \pm desviación estándar en duplicados.

Figura 34. Gráficos de barras que muestran la termoestabilidad de los clones de la familia P2C4. Unión de P2C4 y los clones mutados (A) A9, B1, B5, B6, B8, C4, C7, C12, E2, E3, E7, E8, E9, G2, G11, H1, H2, y H3, y (B) A4, B12, C1, D10, E6, F8, F11 y C1D10 a IL2-R β antes y después del tratamiento térmico. Se muestra la media \pm desviación estándar en duplicados.

Figura 35. Gráficos que muestran la unión de (A) anticuerpo de cadena simple P2C4_FW2 a IL-2R β y (B) anticuerpo de cadena simple P1A3_FW2 a yc.

Figura 36. Gráficos que muestran la unión del clon de anticuerpo biespecífico P2C4/P1A3 a (A) IL-2R β y (B) yc, para anticuerpos que tienen los enlazadores cortos NSGAGTAAA (SEC ID NO: 157) o GGGGSAAA (SEC ID NO:158).

Figura 37. Gráficos que muestran la unión de clones de anticuerpos biespecíficos modificados genéticamente a (A) IL-2R β y (B) yc.

Figura 38. Gráficos que muestran la respuesta *in vitro* de linfocitos T CD8+ específicos de antígeno a la exposición a anticuerpos biespecíficos anti-IL-2R β /yc, medido por citometría de flujo. (A) Expansión dependiente de anticuerpos biespecíficos anti-IL-2R β /yc de linfocitos T CD8+. (B) Relación de linfocitos T CD8:CD4+ tras la exposición al anticuerpo en relación con IL-2, después del cocultivo autólogo de LCL. * valor de p <0,05.

Figura 39. Gráficos que muestran la respuesta *in vitro* de células Treg a la exposición a anticuerpos biespecíficos anti-IL-2R β /yc, medido por citometría de flujo, en (A) un contexto específico de antígeno o (B) no

específico. * valor de $p < 0,05$.

Figura 40. Gráficos de barras que muestran los niveles de citocinas medidos mediante análisis Luminex (A) IFN γ , (B) IL-15, (C) IL-1 β , (D) IL-6 y (E) TNF α en el plasma de primates no humanos, antes y después de la administración de anticuerpos anti-IL-2R β / γ c.

Figura 41. Gráficos de barras que muestran la respuesta *in vivo* de las subpoblaciones de linfocitos T a la inyección de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c, medido por citometría de flujo. (A) Linfocitos T como una proporción de la población de leucocitos totales, (B) células CD8+ positivas para Ki-67+ como una proporción de la población de linfocitos T CD8+ totales. (C) Células CD4+ positivas para Ki-67+ como una proporción de la población de linfocitos T CD4+ totales. La expansión dependiente de anticuerpos biespecíficos está indicada por el aumento en los linfocitos T en relación con la población de leucocitos totales.

Figura 42. Gráficos de barras que muestran la respuesta *in vivo* de las células NK a la inyección de anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c, medido por citometría de flujo. (A) Células NK como una proporción de la población de leucocitos totales antes de la dosis, (B) Células NK positivas para Ki-67+ como una proporción de la población de células NK totales.

Ejemplos

En los siguientes ejemplos, los inventores describen el aislamiento de anticuerpos anti-IL-2R β y anti- γ c, la construcción, la ingeniería y la caracterización funcional *in vitro* e *in vivo* de anticuerpos biespecíficos anti-IL-2R β / γ c.

Ejemplo 1: Aislamiento de anticuerpos anti-IL-2R β humanos y anticuerpos anti- γ c humanos

Se aislaron anticuerpos anti-IL-2R β y anti- γ c a partir de una biblioteca de presentación en fagos de anticuerpos humanos mediante selección *in vitro*. Los anticuerpos Fab específicos se identificaron originalmente mediante ELISA utilizando las proteínas IL-2R β y γ c recombinantes como antígenos.

Ejemplo 2: Construcción de un anticuerpo biespecífico dirigido a IL-2R β - γ c de afinidad media

Los clones que muestran una fuerte unión en el ELISA (Ejemplo 1) se seleccionaron y se usaron para construir un anticuerpo monovalente biespecífico humano "llave en cerradura" basado en un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) unido a una región Fc de la red estructural de IgG 1 como se esquematiza en la Figura 19.

El formato "llave en cerradura" evita la homodimerización y la formación de anticuerpos bivalentes monoespecíficos.

Se introdujo una mutación LALA (sustitución de los restos 234 y 235 de leucina en el dominio constante 2 de la cadena pesada de tipo salvaje por alanina) en la porción Fc del anticuerpo para anular la unión al receptor Fc.

El tamaño del enlazador entre el dominio scFv y el dominio Fc no tiene ningún efecto en la función de la construcción (véase el Ejemplo 6.2 y la Figura 25).

Formato de scFv biespecífico (bis-scFv):

Los scFv de P1A3 y P2C4 se unieron con un enlazador para formar un anticuerpo biespecífico compuesto por dos dominios variables de cadena sencilla conectados por un enlazador (Figura 25A, derecha). Se probaron diferentes tamaños de enlazador (Figura 25C) y se evaluó la actividad midiendo el crecimiento de células NK92.

El bis-scFv fue eficaz para mantener la proliferación de células NK92 en ausencia de IL-2. El tamaño del enlazador entre los dos fragmentos de cadena sencilla no afectó a la actividad del compuesto biespecífico (Figura 25C).

Ejemplo 3: Análisis de la unión a las cadenas del IL-2R

La unión del anticuerpo biespecífico a IL-2R β o γ c se analizó mediante citometría de flujo.

Los anticuerpos se incubaron con células HEK-293.6E que se habían transfectado previamente con construcciones que codifican IL-2R β o γ c.

La unión a las células se detectó utilizando un anticuerpo secundario conjugado con fluorescencia. Se utilizó una IgG 1 de isotipo como control negativo. También se analizaron construcciones biespecíficas con especificidad para IL-2R β o γ c y para una diana irrelevante.

Se demostró que el anticuerpo anti-IL-2R β / γ c se une a las células que expresan sus dianas (Figura 21A).

Ejemplo 4: Análisis de la afinidad por las cadenas del IL-2R

La asociación/disociación del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c a/de las cadenas del receptor se midió en la Resonancia de plasmón superficial utilizando cadenas de IL-2R β recombinante o γ c inmovilizadas en un chip y haciendo fluir varias concentraciones del anticuerpo sobre la superficie.

El anticuerpo mostró una afinidad muy alta por las cadenas de IL-2R β o γ c, con una unión muy rápida y una disociación muy lenta (Figura 20).

La afinidad se midió para el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c P2C4/P1A3 y otros anticuerpos biespecíficos que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1:

Ab biespecífico		K _D (M)	
clon anti-IL-2R β	clon anti- γ c	para IL-2R β	para γ c
P2C4	P1A3	$1,43 \times 10^{-7}$	$2,09 \times 10^{-8}$
P2H7	P2B9	$1,01 \times 10^{-7}$	$7,98 \times 10^{-8}$
P2D12	P1A3	$1,81 \times 10^{-7}$	$7,87 \times 10^{-8}$
P1G11	P1A3	$1,28 \times 10^{-7}$	$3,37 \times 10^{-7}$

Ejemplo 5: Unión a las subpoblaciones de PBMC

El anticuerpo IgG biespecífico anti-IL-2R β / γ c se analizó en PBMC aisladas de donantes sanos para comprobar a qué subpoblaciones celulares se une. Se añadieron anticuerpo o control de isotipo IgG a las PBMC y se detectaron con anticuerpo anti-IgG humana secundario conjugado con fluorescencia en ensayos de citometría de flujo.

El anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c no mostró unión alta por linfocitos T CD4+ o CD8+. Sin embargo, el anticuerpo se unió eficazmente a las células NK CD56+, linfocitos B CD19+ y monocitos CD14+/CD16+ (Figura 21B).

Ejemplo 6: Actividad/efectos agonistas de IL-2 del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c*6.1 Fosforilación de la vía de señalización*

Se sabe que la IL-2 desencadena la señalización intracelular a través de las vías de STAT5, ERK y Akt. El anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c se analizó para determinar su capacidad para inducir la señalización a través de estas vías.

Se privó a las células NK92 sensibles a IL-2 del suero y luego se estimularon con IL-2 (100 U/ml, es decir, $\sim 0,5 \text{ nM}^1$) o el anticuerpo anti-IL-2R β / γ c (10 $\mu\text{g/ml}$, es decir, $\sim 95 \text{ nM}^2$) durante 30 minutos y la fosforilación de STAT5, Akt y ERK se detectó utilizando anticuerpos fluorescentes en ensayos de citometría de flujo.

El anticuerpo anti-IL-2R β / γ c indujo la fosforilación de STAT5 y Akt, aunque de una manera más suave que la IL-2 (Figura 22). En este ensayo, el anticuerpo frente a IL-2R β / γ c no desencadenó la fosforilación de ERK (Figura 22).

Uno de los mayores obstáculos para el uso terapéutico de la IL-2 es la estimulación preferente de las células que expresan el receptor heterotrimérico de alta afinidad CD25, por ejemplo, linfocitos T reguladoras (Treg), linfocitos T activados, linfocitos B activados, algunas células precursoras mieloides y células epiteliales.

La fosforilación de STAT5 en presencia de IL-2 o el anticuerpo anti-IL-2R β / γ c se midió mediante citometría de flujo en Treg, linfocitos T CD8+ y células NK obtenidas de donantes sanos.

Bastó con pequeñas cantidades de IL-2 para activar las células NK o T, pero incluso a niveles bajos de IL-2, las Treg se activaron de manera preferente y fuerte. A concentraciones que dan menos del 20 % de activación de la vía de señalización de STAT5 en linfocitos T CD8+ o células NK, los Treg ya mostraron una activación del 100 % (Figura 23).

Por el contrario, el anticuerpo biespecífico mostró un perfil de activación diferente con una activación preferente inferior de Treg. A concentraciones que dan lugar a una activación del 20 % de los linfocitos T CD8+ y las células NK, los Treg mostraron entre un 39 y un 49 % de fosforilación de STAT5. A concentraciones que dan un 50 % de activación de los linfocitos T CD8+ y las células NK, la población de Treg todavía no estaba completamente activada, con un 73-78 % de fosforilación de STAT5 (Figura 23).

6.2 Proliferación de células dependientes de IL-2

La viabilidad y el crecimiento de las células NK92 se midieron con colorante azul Alamar en ausencia de IL-2.

- 5 El anticuerpo anti-IL-2R β /yc pudo mantener la proliferación de células NK92 en ausencia de IL-2, mientras que el anticuerpo construye unión a una sola cadena del receptor de IL-2 no mostró ningún efecto (Figura 24).

Para evaluar si la longitud del enlazador tenía un efecto sobre la funcionalidad del anticuerpo, el mismo ensayo se realizó utilizando anticuerpos con diferentes tamaños de enlazador.

- 10 El crecimiento de las células NK92 no se vio afectado por el tamaño del enlazador (Figura 25B). Los datos en la Figura 25B se obtuvieron utilizando los enlazadores más cortos y más largos (entre 5 y 23 aminoácidos).

- 15 Se analizaron enlazadores de diferente longitud en el formato de anticuerpo biespecífico o formato de scFv biespecífico, como se representa esquemáticamente en la Figura 25A. En resumen, scFv de P1A3 y P2C4 se unieron con enlazadores de diferentes tamaños y la actividad se analizó midiendo el crecimiento de las células NK92.

- 20 Los resultados se muestran en las Figuras 25B y 25C. El bis-scFv es eficaz para mantener la proliferación de células NK92 en ausencia de IL-2 y el tamaño del enlazador entre los dos fragmentos scFv no afecta a la actividad.

6.3 Reactividad cruzada con células de mono cinomolgo

- 25 El anticuerpo anti-IL-2R β /yc también se analizó en células de primates no humanos. En resumen, se incubaron esplenocitos de cinomolgo en presencia de IL-2 humana o el anticuerpo biespecífico y se midió la fosforilación de STAT5. Se descubrió que el anticuerpo tenía reactividad cruzada con IL-2R de cinomolgo y desencadenó la fosforilación de STAT5 tan eficientemente como la IL-2 humana (Figura 26).

6.4 Conclusión

- 30 En conjunto, estos datos muestran que el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc tiene algunos efectos agonistas para la IL-2 y que estos efectos no se dirigen de manera altamente preferente hacia las células que expresan CD25.

Ejemplo 7: Modulación de la respuesta inmunitaria: control de la expansión de linfocitos T en un entorno de estimulación no específica

- 35 Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un donante voluntario y se cultivaron durante 1 semana en presencia de IL-2 humana recombinante (200 ng/ml), el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (3, 1, 0,3, 0,1 o 0,03 μ g/ml) o perlas anti-CD3/CD28 como control positivo. Después de 1 semana, la expansión celular se evaluó midiendo los recuentos celulares absolutos; las proporciones de las subpoblaciones celulares se midieron mediante FACS.

7.1 Expansión de linfocitos T

- 45 A concentraciones comparables (IL-2 200ng/ml \approx 12 nM; El anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc 3 μ g/ml \approx 20nM), el anticuerpo desencadena la proliferación de linfocitos T en menor medida que la IL-2 (Figura 27A a 27C). El anticuerpo biespecífico muestra un efecto dependiente de la dosis sobre la proliferación de linfocitos T (Figura 27A a 27D). En una configuración de estimulación no específica, la proporción de células CD8:CD4 no fue significativamente diferente en presencia del anticuerpo anti-IL-2R β /yc en comparación con cuando las células se cultivaron con IL-2 (Figura 27D).

7.2 Estimulación de linfocitos T reguladores

- 55 Los linfocitos T reguladores (Treg) expresan la subcadena de IL-2R α del receptor de IL-2 de alta afinidad. En una configuración de estimulación no específica, la IL-2 estimula de forma preferente los linfocitos T reguladores entre los linfocitos T CD3+CD4+; dicha expansión de Treg no la desencadenó el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc (Figura 28).

7.3 Estimulación de células efectoras frente a células de memoria

- 60 Respecto a los linfocitos CD8+ de memoria, el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β /yc desencadena una mayor expansión de la subpoblación de linfocitos T CD8+ de memoria efectoras, al tiempo que desencadena menos expansión de las subpoblaciones de linfocitos T CD8+ de memoria centrales y vírgenes en comparación con la expansión en respuesta a la estimulación con IL-2 (Figura 29).

65

Ejemplo 8: Modulación de la respuesta inmunitaria: control de la expansión de linfocitos T en un entorno de estimulación específico

Las PBMC de un donante voluntario seropositivo para el virus de Epstein-Barr (EBV) se infectaron con EBV para producir líneas celulares de linfoblastoides (LCL). Las LCL se clasificaron y se irradiaron con rayos γ con el fin de inhibir su proliferación posterior. Las LCL irradiadas se cultivaron de forma conjunta a una densidad de 1×10^5 células/ml con 2×10^6 PBMC autólogas/ml durante 2 semanas, en presencia de IL-2, el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ C o las perlas anti-CD3/CD28 (control positivo). A continuación, se analizaron las células para determinar la proliferación y las proporciones de diferentes subpoblaciones de células.

Se realizó un ensayo de destrucción citotóxica utilizando un sustrato peptídico fluorescente para la granzima B y la caspasa 8. Los linfocitos T expandidos se incubaron conjuntamente con las LCL vivas en una proporción de 2:1 durante una hora. La muerte se midió mediante análisis de células peptídicas fluorescentes positivas con citometría de flujo, lo que indicó que las células estaban experimentando muerte celular programada inducida por CTL.

8.1 Expansión de linfocitos T

El anticuerpo biespecífico desencadena la expansión de los linfocitos T, incluso a concentraciones bajas. La expansión de linfocitos T mediada por anticuerpos biespecíficos anti-IL-2R β / γ C es ligeramente mayor que la expansión observada después de la estimulación con IL-2 (Figura 30A). Si bien el anticuerpo no influye significativamente en el número de linfocitos T CD4 $^{+}$ (Figura 30B), el anticuerpo provoca un aumento en el número de linfocitos T CD8 $^{+}$ en mayor medida que la IL-2 (Figura 30C) y, por lo tanto, aumentó la proporción de células CD8:CD4 (Figura 30D).

8.2 Efectos sobre las subpoblaciones de linfocitos T

A la concentración más alta (1 μ g/ml), el anticuerpo anti-IL-2R β / γ C favorece la expansión de los linfocitos T CD8 $^{+}$ efectoras sobre las células de memoria CD8 $^{+}$ en comparación con la estimulación con IL-2 (Figura 31A). En comparación con la estimulación de IL-2, el anticuerpo anti-IL-2R β / γ C también desencadena un aumento en la subpoblación CD8 $^{+}$ PD-1 $^{+}$ (Figura 31B), al tiempo que disminuye la proporción de Treg (Figura 31C).

8.3 Muerte mediada por linfocitos T citotóxicos

El anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ C es capaz de provocar citotoxicidad de CTL. A una molaridad comparable (12 nM (200 ng/ml) para IL-2 frente a 7 nM (1 μ g/ml) para el anticuerpo), la citotoxicidad mediada por anticuerpos es inferior a la citotoxicidad desencadenada por la IL-2 (Figura 32).

8.4 Conclusión

En conjunto, los datos sugieren que el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ C desencadena un mecanismo de acción diferente al de la IL-2. El anticuerpo provoca preferentemente la expansión de linfocitos T CD8 $^{+}$ efectoras. El anticuerpo permite la estimulación de los linfocitos T citotóxicos, pero no estimula preferentemente los Treg como lo hace la IL-2.

Ejemplo 9: Ingeniería de secuencia para mejorar la estabilidad

Uno de los mayores desafíos al construir anticuerpos biespecíficos es la estabilidad de la construcción heterogénica. A diferencia de las IgG mono-específicas, el presente anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ C es un ensamblaje artificial de dos pares diferentes de cadenas ligeras/pesadas.

Para mejorar la estabilidad general de las construcciones, mediante ingeniería se diseñaron los clones de anticuerpos originales P2C4 y P1A3 para aumentar su termoestabilidad.

9.1 Clones termoestables

Las bibliotecas de clones mutagenizados al azar se construyeron a partir de los clones principales P2C4 y P1A3 y los mutantes se seleccionaron para determinar su unión a las dianas respectivas en un *panning* de dos rondas seguido de ELISA. Los aglutinantes se sometieron luego a calentamiento a 55 °C. Los mutantes que aún se unían después del calentamiento se secuenciaron y se identificaron clones únicos.

La termoestabilidad de los clones se evaluó después de calentar durante 4 horas entre 45 °C y 65 °C, midiendo la unión a su diana respectiva, o γ C (Figura 33A y 33B) o IL-2R β (Figura 34A y 34B), en ELISA. Los clones mutados mostraron una mayor estabilidad térmica que los clones originales.

9.1 Injerto de marco altamente estable

Con el fin de aumentar aún más la estabilidad del anticuerpo, los clones se injertaron en los marcos de anticuerpos que se sabía que eran altamente estables.

P2C4 y P1A3 se injertaron en marcos de anticuerpos que se sabe que tienen una estabilidad alta. Se realizaron experimentos ELISA para asegurar que los nuevos clones conservaran la capacidad para unirse a IL-2R β y γ c.

Tanto P2C4_FW2 como P1A3_FW2 mostraron un perfil de unión dependiente de la dosis a IL-2R β y γ c, respectivamente (Figura 35A y 35B).

Ejemplo 10: Unión de nuevas construcciones biespecíficas a IL-2R β / γ c

10.1 Enlazador corto entre dominios variables y constantes

Se prepararon construcciones de anticuerpos biespecíficos que incluyen uno de los siguientes enlazadores cortos entre el scFv y el dominio constante (formato de anticuerpo: dominio VH - enlazador - dominio VL - enlazador corto - bisagra - dominio CH2 (+ LALA) - dominio CH3 (+llave/cerradura + cys)): NSGAGTAAA (SEQ ID NO:157) o GGGGSAAA (SEQ ID NO:158).

Se generaron construcciones biespecíficas con enlazadores cortos NSGAGTAAA (SEQ ID NO: 157) o GGGGSAAA (SEQ ID NO: 158) y se analizó la unión a IL-2R β y γ c mediante ELISA.

Se descubrió que los anticuerpos biespecíficos se unían a una afinidad similar independientemente de la identidad del enlazador corto (Figuras 36A y 36B).

Se construyeron anticuerpos biespecíficos con las nuevas secuencias y la unión se evaluó mediante ELISA en IL-2R β o IL-2R γ c. Se descubrió que las construcciones se unían con una afinidad similar o mejor que los anticuerpos biespecíficos parentales frente a IL-2R (Figuras 37A y 37B).

Ejemplo 11: Efectos sobre la expansión y polarización de linfocitos T

Se realizaron ensayos con linfocitos T para medir el efecto del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c sobre la expansión de linfocitos T *in vitro* y su impacto en la polarización cualitativa específica del antígeno y no específica y la especificidad de la subpoblación. Se utilizó sangre periférica de individuos positivos para EBV para generar tanto líneas de linfocitos B linfoblastoides transformados con EBV (LCL) como líneas de CTL específicas de EBV.

En resumen, para generar LCL, se cultivaron PBMC durante 1 semana en presencia de ciclosporina y EBV, y durante 2 semanas adicionales en medios renovados con ciclosporina pero sin EBV. Después de cultivar, las células se transfirieron a una columna de G-Rex y se controló el crecimiento. Para la generación de CTL, los LCL se irradiaron para actuar como una fuente de antígeno para los CTL. Las PBMC se cocultivaron con LCL en una relación entre efectores y estimulantes (E:S) de 40:1. Las células fueron estimuladas mediante la adición de IL-2, el anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c o esferas de CD3/28.

Después de 7 días, se sometió a las células a un cambio de medio y a estimulaciones adicionales. El día 10, se analizaron las células para determinar la expansión y el fenotipo de los linfocitos mediante citometría de flujo.

Se descubrió que la adición del anticuerpo biespecífico da como resultado un aumento significativo de la expansión de linfocitos T CD8+ específicos de antígeno en comparación con la expansión en respuesta a la estimulación con IL-2 (Figura 38A). Adicionalmente, los cultivos *in vitro* mostraron mejores relaciones CD8:CD4 tras la estimulación con anticuerpo (Figura 38B).

El impacto del anticuerpo biespecífico sobre la expansión de los linfocitos T reguladores (Treg) se midió y comparó con la expansión de los Treg en respuesta a la estimulación con IL-2, en contextos específicos de antígeno (cocultivo de LCL autólogos) y no específicos (microperlas anti-CD3/CD28). La adición de anticuerpo biespecífico da como resultado una expansión significativamente reducida de Treg en comparación con la expansión de Treg en respuesta a IL-2, tanto en contextos de estimulación no específica (Figura 39A) como específica de antígeno (Figura 39B).

Ejemplo 12: Datos *in vivo* en primates no humanos

Se estableció un experimento de aumento de dosis en macacos cinomolgos para medir los efectos de la inyección intravenosa (iv) del anticuerpo biespecífico anti-IL-2R β / γ c, su capacidad para impulsar la proliferación de linfocitos T y células NK, y su toxicidad potencial a través de "tormenta de citocinas".

Se administró a tres macacos una dosis única del anticuerpo anti-IL-2R β / γ c, por vía intravenosa a través de la arteria

femoral; el macaco A recibió 1 mg/kg, el macaco B recibió 5 mg/kg y el macaco C recibió 10 mg/kg. La sangre se obtuvo antes de la inyección del anticuerpo y 1 h, 24 h, 72 h y 120 h después de la inyección.

- 5 A lo largo de todo el estudio se midieron las constantes vitales y se realizaron exploraciones físicas y, después del mismo, durante 3 semanas más. Se aislaron las PBMC en todos los puntos de tiempo, se analizaron las subpoblaciones de leucocitos mediante tinción inmunitaria y citometría de flujo, y la expansión celular se evaluó mediante el análisis de la expresión de Ki-67. Se midieron los niveles de citocinas en plasma mediante Luminex® en todos los puntos de tiempo.
- 10 La exploración física veterinaria no indicó anomalías en el aspecto general, las membranas mucosas, los sistemas cardiovascular, respiratorio, integumentario, alimenticio, musculoesquelético, nervioso, urogenital, auditivo u ocular. Los animales no mostraron hallazgos clínicos de enfermedad febril o depresión. Un animal (macaco B) mostró una leve pérdida de peso de la que se recuperó durante el curso del estudio. Los animales no mostraron signos evidentes de toxicidad habitualmente asociada con la administración de IL-2 (PMID: 1418698 y 8454416).
- 15 De acuerdo con estas observaciones, el análisis de citocinas demostró solo aumentos leves en los mediadores inflamatorios después de la inyección (Figuras 40A a 40E). El análisis de citometría de flujo indicó una proliferación marcada de las poblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ (Figuras 41A a 41C).
- 20 También se observó proliferación de células NK en respuesta al tratamiento con anticuerpos (Figuras 42A y 42B). Cabe señalar que esta expansión se observó después de una dosis única de anticuerpo, en comparación con la infusión continua o las dosis repetidas requeridas para IL-2, lo que sugiere que el anticuerpo biespecífico anti-IL-2Rβ/γc tiene una semivida más larga que la IL-2.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno, opcionalmente aislado, que es capaz de unirse a CD122 y la cadena γ común (γc), en donde el anticuerpo biespecífico o fragmento el biespecífico de unión a antígeno es un agonista del receptor de IL-2, y que comprende:

(a) un fragmento de unión a antígeno que se une a CD122, que comprende:

(i) una región variable de cadena ligera que comprende las siguientes CDR:

LC-CDR1:	TGTSSDIGHYDFVS	(SEQ ID NO:2)
LC-CDR2:	DINNRRPS	(SEQ ID NO:3)
LC-CDR3:	SAYTSSDTLV	(SEQ ID NO: 4); y

(ii) una región variable de cadena pesada que comprende las siguientes CDR:

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO: 36);
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSPQKFQG	(SEQ ID NO: 37);
HC-CDR3:	GEYYDSSGYYY	(SEQ ID NO: 38); y

(b) un fragmento de unión a antígeno que se une a la cadena γ común.

2. El anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fragmento de unión a antígeno que se une a CD122 comprende una secuencia de región variable de cadena ligera y una secuencia de región variable de cadena pesada, en donde:

la secuencia de la región variable de cadena ligera tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región variable de cadena ligera de la SEC ID NO: 1 y

la secuencia de la región variable de cadena pesada tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región variable de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35.

3. El anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el fragmento de unión a antígeno que se une a la cadena γ común comprende una secuencia de región variable de cadena ligera y una secuencia de región variable de cadena pesada, en donde la secuencia de la región variable de cadena ligera tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región variable de cadena ligera de la SEQ ID NO: 67.

4. El anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el fragmento de unión a antígeno que se une a la cadena γ común comprende:

(i) una región variable de cadena ligera que comprende las siguientes CDR:

LC-CDR1:	RSSQSLHSHNGYNYLD	(SEQ ID NO:68)
LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO:69)
LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO: 70); y

(ii) una región variable de cadena pesada que comprende las siguientes CDR:

HC-CDR1:	GYYSWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYNPSLKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77)

5. El anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el fragmento de unión a antígeno que se une a la cadena γ común comprende una secuencia de región variable de cadena ligera y una secuencia de región variable de cadena pesada, en donde:

la secuencia de la región variable de cadena ligera tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región variable de cadena ligera de la SEC ID NO: 67 y

la secuencia de la región variable de cadena pesada tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región variable de cadena pesada de la SEQ ID NO: 76.

6. El anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, conjugado con un resto de fármaco o un resto detectable.

7. Un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

8. Una célula que comprende un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7.
9. Una composición que comprende el anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, el receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7, o la célula de acuerdo con la reivindicación 8, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo biespecífico o el fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o el receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7.
11. Un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7, una célula de acuerdo con la reivindicación 8 o una composición de acuerdo con la reivindicación 9, para su uso en terapia o en un procedimiento de tratamiento médico.
12. Un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7, una célula de acuerdo con la reivindicación 8 o una composición de acuerdo con la reivindicación 9, para su uso en el tratamiento del cáncer o de una enfermedad infecciosa.
13. Un procedimiento que comprende poner en contacto, *in vitro*, una muestra que contiene, o que se sospeche que contiene, CD122 y/o cadena γ común (γ c) con un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7, una célula de acuerdo con la reivindicación 8 o una composición de acuerdo con la reivindicación 9, y detectar la formación de un complejo del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno el CAR o la célula con CD122 y/o γ c.
14. Un procedimiento para expandir una población de linfocitos T y/o células NK, en el que los linfocitos T y/o las células NK se ponen en contacto *in vitro* o *ex vivo* con un anticuerpo biespecífico o un fragmento biespecífico de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, un receptor de antígeno quimérico (CAR) de acuerdo con la reivindicación 7, una célula de acuerdo con la reivindicación 8 o una composición de acuerdo con la reivindicación 9.

P2C4, P2C4_A9

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPSGISNR
FSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGGGTKLT (SEQ ID NO:1)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

P2H7

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTLSCRAGQAISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLESGVPSR
FSGGGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYQSYPYTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO:5)

LC-CDR1: RAGQAISSWLA (SEQ ID NO:6)
LC-CDR2: KASNLES (SEQ ID NO:7)
LC-CDR3: QQYQSYPYT (SEQ ID NO:8)

P2D12

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDIGNYLNWYQLKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF
SGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCLQLYDYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:9)

LC-CDR1: QASQDIGNYLN (SEQ ID NO:10)
LC-CDR2: DASNLET (SEQ ID NO:11)
LC-CDR3: LQLYDYPLT (SEQ ID NO:12)

P1G11

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIFDDNQRPTGVPD
RFSAADTSSSSASLTISGLTAEDEADYYCQSSHSTAVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:13)

LC-CDR1: TRSSGSIASNYVQ (SEQ ID NO:14)
LC-CDR2: DDNQRPT (SEQ ID NO:15)
LC-CDR3: QSSHSTAVV (SEQ ID NO:16)

Figura 1

P2C4 A4, P2C4 C1

QSALTQPASVSGSPGQSIAISCTGTSSDIGDYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRP~~SGISNR~~
FSGSKSDNMA~~SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLV~~FGGG~~TKLT~~ (SEQ ID NO:17)

LC-CDR1: TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

P2C4 B1

QSALTQPASVSGSPGQSIAISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYD~~NNNRPS~~GISN
RFSGSKSDNMA~~SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLV~~FGGG~~TKLT~~ (SEQ ID NO:19)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DNNNRPS (SEQ ID NO:20)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

P2C4 B5

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRP~~SGISNR~~
FSGSKSDNMA~~SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTV~~VFGGG~~TKLT~~ (SEQ ID NO:21)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

**P2C4 B6, P2C4 B8, P2C4 C12, P2C4 D10, P2C4 E2, P2C4 E3, P2C4 E8, P2C4 G2,
P2C4 G11, P2C4 H1, P2C4 H2, P2C4 H3**

QSALTQPASVSGSPGQSIAISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRP~~SGISNR~~
FSGSKSDNMA~~SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTV~~VFGGG~~TKLT~~ (SEQ ID NO:23)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

Figura 1 (cont.)

P2C4 B12

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFISWYQQHPGTAPKLIYDFNNRPSGISNR
FSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGGGTKLT (SEQ ID NO:24)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFIS (SEQ ID NO:25)
LC-CDR2: DFNNRPS (SEQ ID NO:26)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

P2C4 C4

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDNNNRPSGISN
RFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:27)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DNNNRPS (SEQ ID NO:20)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

P2C4 C7

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPISGISNR
FSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:28)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

P2C4 E6

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGDYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPISGISNR
FSGSKSDNMASLIISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGGGTKLT (SEQ ID NO:29)

LC-CDR1: TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

Figura 1 (cont.)

P2C4 E7

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPSGISNR
FSGSKSDDMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:30)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTVV (SEQ ID NO:22)

P2C4 E9

QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRASGISNR
FSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:31)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRAS (SEQ ID NO:32)
LC-CDR3: SAYTSSDTVV (SEQ ID NO:22)

P2C4 F8

QSALTQPASVSGNPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPSGISNR
FSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:33)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTVV (SEQ ID NO:22)

P2C4 F11

QSTLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRPSGISNR
FSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGGGTKLT (SEQ ID NO:34)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTVV (SEQ ID NO:22)

Figura 1 (cont.)

P2C4 C1D10

QSALTQPASVSGSPGQSIAISCTGTSSDIGDYDFVSWYQQHPGTAPKLIYDINNRP^{SGISNR}
FSGSKSDNMA^{SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVF}GGG^{TKLT} (SEQ ID NO:148)

LC-CDR1: TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

P2C4 FW2

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQLPGTAPKLLIYDINNRP^{SGVP}
DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCSAYTSSDTLV^FGGG^{TKLT} (SEQ ID NO:149)

LC-CDR1: TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)
LC-CDR2: DINNRPS (SEQ ID NO:3)
LC-CDR3: SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)

Figura 1 (cont.)

P2C4, P2C4 A4, P2C4 B1, P2C4 B5, P2C4 C1, P2C4 C4, P2C4 C7, P2C4 D10, P2C4 E6, P2C4 E7, P2C4 F8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHVWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGEY YDSSGYYYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO:35)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEY YDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2H7

EVQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAMHWVRQAPGQSLEWMGWINTGNGNT
KYSQNFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARDLGQLERLYFWGQGLVTVS
S (SEQ ID NO:39)

HC-CDR1:	TYAMH	(SEQ ID NO:40)
HC-CDR2:	WINTGNGNTKYSQNFQG	(SEQ ID NO:41)
HC-CDR3:	DLGQLERLYFW	(SEQ ID NO:42)

P2D12

HVQLVETGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLG DYWGQGLVTVSS (SEQ
ID NO:43)

HC-CDR1:	SYAMS	(SEQ ID NO:44)
HC-CDR2:	AISGSGGSTYYADSVKG	(SEQ ID NO:45)
HC-CDR3:	DLGDY	(SEQ ID NO:46)

P1G11

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
PSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSSGDAFDI WGQGMTVTVSS (SEQ
ID NO:47)

HC-CDR1:	GYYS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYNPSLKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SSSGDAFD	(SEQ ID NO:50)

Figura 2

P2C4 A9

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAYYYCARGEYYYDSSGYYNWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:51)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYN	(SEQ ID NO:52)

P2C4 B6, P2C4 E9

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAYYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 VSS (SEQ ID NO:53)

HC-CDR1:	NYYIH	(SEQ ID NO:54)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 B8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQPPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAYYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:55)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 B12

EVQLVQSGAEVKKPGSTVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAYYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:56)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

Figura 2 (cont.)

P2C4 C12

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
 SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLTV
 TVSN (SEQ ID NO:57)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 E2

EVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
 SYPQKFQGRVTMTGDTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLTVT
 VSS (SEQ ID NO:58)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 E3

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGTS
 YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELNSLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLTVT
 VSS (SEQ ID NO:59)

HC-CDR1:	NYYIH	(SEQ ID NO:54)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 E8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
 SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:60)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

Figura 2 (cont.)

P2C4 F11

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGGRVTMTGDTSTSTVYMELSLRSEDTAMYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:61)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 G2

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGGRVTMTGDTSTSTVYMELSLRTEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:62)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 G11

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGGRVTMTGDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 TVSS (SEQ ID NO:63)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 H1

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGGRVTMTGDTSTSTVYMELSLRSEDTAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTLV
 NVSS (SEQ ID NO:64)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

Figura 2 (cont.)

P2C4 H2

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSNYYMHWVRQAPGQGLEWIGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLVT
VSS (SEQ ID NO:65)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 H3

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKATGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSS (SEQ ID NO:66)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 C1D10

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGTPV
TVSS (SEQ ID NO:150)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

P2C4 FW2

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCARGEYYYDSSGYYYWGQGLTV
VSS (SEQ ID NO:151)

HC-CDR1:	NYYMH	(SEQ ID NO:36)
HC-CDR2:	AIMPSRGGTSYPQKFQG	(SEQ ID NO:37)
HC-CDR3:	GEYYYDSSGYYY	(SEQ ID NO:38)

Figura 2 (cont.)

P1A3, P1A3 B3, P1A3 E8, P1A3 E9

DVVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:67)

LC-CDR1:	RSSQSLHNSNGYNYLD	(SEQ ID NO:68)
LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO:69)
LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO:70)

P2B9

SYELTQPPSMSVSPGQTARITCSGDALPKQFAFWYQQKPGQAPVLVIYKDTERPSGIPERF
SGSSSGTTVTLTITGVQAEDEADYYCQSPDSSGTVEVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:71)

LC-CDR1:	SGDALPKQFAF	(SEQ ID NO:72)
LC-CDR2:	KDTERPS	(SEQ ID NO:73)
LC-CDR3:	QSPDSSGTVEV	(SEQ ID NO:74)

P1A3 B4

DVVMTQSPLSLPVTTPGESVSISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRDS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:75)

LC-CDR1:	RSSQSLHNSNGYNYLD	(SEQ ID NO:68)
LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO:69)
LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO:70)

P1A3 FW2

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSSQSLHNSNGYNYLDWYQQKPGKAPKLLIYLGSNRDS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQGTHWPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:
152)

LC-CDR1:	RSSQSLHNSNGYNYLD	(SEQ ID NO:68)
LC-CDR2:	LGSNRDS	(SEQ ID NO:69)
LC-CDR3:	MQGTHWPWT	(SEQ ID NO:70)

Figura 3

P1A3

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTLTVSS
 (SEQ ID NO:76)

HC-CDR1:	GYYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77)

P2B9

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYY
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGDILTGYALDYWGQGTLTVSS
 (SEQ ID NO:78)

HC-CDR1:	SSSYWGW	(SEQ ID NO:79)
HC-CDR2:	SIYYSGSTYYNPSLK	(SEQ ID NO:80)
HC-CDR3:	DILTGYALDY	(SEQ ID NO:81)

P1A3 B3, P1A3 B4, P1A3 E9

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNYN
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTLTVSS
 (SEQ ID NO:82)

HC-CDR1:	GYYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHFGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:83)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77)

P1A3 E8

QVQLQQWGAGMLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNY
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTLTVSS
 (SEQ ID NO:84)

HC-CDR1:	GYYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHFGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:83)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77)

Figura 4

P1A3 FW2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFSGYYWSWVRQAPGKGLEWVSEINHSGSTNY
NPSLKS^RFTISRDN^SKN^TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPGGYSGGYFQHWGQGTLVTVS
S (SEQ ID NO: 153)

HC-CDR1:	GYYWS	(SEQ ID NO:48)
HC-CDR2:	EINHSGSTNYPNPSLKS	(SEQ ID NO:49)
HC-CDR3:	SPGGYSGGYFQH	(SEQ ID NO:77)

Figura 4 (cont.)

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena ligera			
P2C4 P2C4_A9 P2C4_FW2	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2H7	RAGQAISWLA (SEQ ID NO:6)	KASNLES (SEQ ID NO:7)	QQYQSYPT (SEQ ID NO:8)
P2D12	QASQDIGNYLN (SEQ ID NO:10)	DASNLET (SEQ ID NO:11)	LQLYDYPLT (SEQ ID NO:12)
P1G11	TRSSGSIASNYVQ (SEQ ID NO:14)	DDNQRPT (SEQ ID NO:15)	QSSHSTAVV (SEQ ID NO:16)
P2C4_A4 P2C4_C1 P2C4_E6	TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_B1	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DNNRPS (SEQ ID NO:20)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_B5 P2C4_B6 P2C4_B8 P2C4_C7 P2C4_C12 P2C4_D10 P2C4_E2 P2C4_E3 P2C4_E7 P2C4_E8 P2C4_F8 P2C4_F11 P2C4_G2 P2C4_G11 P2C4_H1 P2C4_H2 P2C4_H3	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_B12	TGTSSDIGHYDFIS (SEQ ID NO:25)	DFNNRPS (SEQ ID NO:26)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_C4	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DNNRPS (SEQ ID NO:20)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_E9	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRAS (SEQ ID NO:32)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_C1D10	TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)

Figura 5

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena pesada			
P2C4 P2C4_A4 P2C4_B1 P2C4_B5 P2C4_B8 P2C4_B12 P2C4_C1 P2C4_C4 P2C4_C7 P2C4_C12 P2C4_D10 P2C4_E2 P2C4_E6 P2C4_E7 P2C4_E8 P2C4_F8 P2C4_F11 P2C4_G2 P2C4_G11 P2C4_H1 P2C4_H2 P2C4_H3 P2C4_C1D10 P2C4_FW2	NYYMH (SEQ ID NO:36)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYY (SEQ ID NO:38)
P2H7	TYAMH (SEQ ID NO:40)	WINTGNGNTKYSQNFQG (SEQ ID NO:41)	DLGQLERLYFW (SEQ ID NO:42)
P2D12	SYAMS (SEQ ID NO:44)	AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:45)	DLGDY (SEQ ID NO:46)
P1G11	GYYSWS (SEQ ID NO:48)	EINHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:49)	SSSGDAFD (SEQ ID NO:50)
P2C4_A9	NYYMH (SEQ ID NO:36)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYN (SEQ ID NO:52)
P2C4_B6 P2C4_E3 P2C4_E9	NYYIH (SEQ ID NO:54)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYY (SEQ ID NO:38)

Figura 6

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena ligera			
P1A3 P1A3_B3 P1A3_E8 P1A3_E9 P1A3_B4 P1A3_FW2	RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:68)	LGSNRDS (SEQ ID NO:69)	MQGTHWPWT (SEQ ID NO:70)
P2B9	SGDALPKQFAF (SEQ ID NO:72)	KDTERPS (SEQ ID NO:73)	QSPDSSGTVEV (SEQ ID NO:74)

Figura 7

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena pesada			
P1A3 P1A3_FW2	GYWWS (SEQ ID NO:48)	EINHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:49)	SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77)
P2B9	SSSYWVG (SEQ ID NO:79)	SIYYSGSTYYNPSLK (SEQ ID NO:80)	DILTGYALDY (SEQ ID NO:81)
P1A3_B3 P1A3_B4 P1A3_E8 P1A3_E9	GYWWS (SEQ ID NO:48)	EINHFGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:83)	SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77)

Figura 8

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena ligera			
P2C4 P2C4_A9 P2C4_FW2	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_A4 P2C4_C1 P2C4_E6	TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_B1	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DNNRPS (SEQ ID NO:20)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_B5 P2C4_B6 P2C4_B8 P2C4_C7 P2C4_C12 P2C4_D10 P2C4_E2 P2C4_E3 P2C4_E7 P2C4_E8 P2C4_F8 P2C4_F11 P2C4_G2 P2C4_G11 P2C4_H1 P2C4_H2 P2C4_H3	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_B12	TGTSSDIGHYDFIS (SEQ ID NO:25)	DFNNRPS (SEQ ID NO:26)	SAYTSSDTLV (SEQ ID NO:4)
P2C4_C4	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DNNRPS (SEQ ID NO:20)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_E9	TGTSSDIGHYDFVS (SEQ ID NO:2)	DINNRAS (SEQ ID NO:32)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
P2C4_C1D10	TGTSSDIGDYDFVS (SEQ ID NO:18)	DINNRPS (SEQ ID NO:3)	SAYTSSDTV (SEQ ID NO:22)
CONSENSO	TGTSSDIGX ₁ YDFX ₂ S (SEQ ID NO:85) en la que X ₁ = H o D y X ₂ = V o I	DX ₃ NNRX ₄ S (SEQ ID NO:86) en la que X ₃ = I, N o F y X ₄ = P o A	SAYTSSDTX ₅ V (SEQ ID NO:87) en la que X ₅ = = L o V

Figura 9

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena pesada			
P2C4 P2C4_A4 P2C4_B1 P2C4_B5 P2C4_B8 P2C4_B12 P2C4_C1 P2C4_C4 P2C4_C7 P2C4_C12 P2C4_D10 P2C4_E2 P2C4_E6 P2C4_E7 P2C4_E8 P2C4_F8 P2C4_F11 P2C4_G2 P2C4_G11 P2C4_H1 P2C4_H2 P2C4_H3 P2C4_H3 P2C4_C1D10 P2C4_FW2	NYYMH (SEQ ID NO:36)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYY (SEQ ID NO:38)
P2C4_A9	NYYMH (SEQ ID NO:36)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYN (SEQ ID NO:52)
P2C4_B6 P2C4_E3 P2C4_E9	NYYIH (SEQ ID NO:54)	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYY (SEQ ID NO:38)
CONSENSO	NYYX ₆ H (SEQ ID NO:88) en la que X ₆ = M o I	AIMPSRGGTSYPQKFQG (SEQ ID NO:37)	GEYYDSSGYYX ₇ (SEQ ID NO:89) en la que X ₇ = Y o N

Figura 10

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena ligera			
P1A3 P1A3_B3 P1A3_E8 P1A3_E9 P1A3_B4 P1A3_FW2	RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:68)	LGSNRDS (SEQ ID NO:69)	MQGTHWPWT (SEQ ID NO:70)
CONSENSO	RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:68)	LGSNRDS (SEQ ID NO:69)	MQGTHWPWT (SEQ ID NO:70)

Figura 11

Clon	CDR 1	CDR 2	CDR 3
Cadena pesada			
P1A3 P1A3_FW2	GYYSWS (SEQ ID NO:48)	EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:49)	SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77)
P1A3_B3 P1A3_B4 P1A3_E8 P1A3_E9	GYYSWS (SEQ ID NO:48)	EINHFGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:83)	SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77)
CONSENSO	GYYSWS (SEQ ID NO:48)	EINHX ₈ GSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:90) en la que X ₈ = S o F	SPGGYSGGYFQH (SEQ ID NO:77)

Figura 12

P2C4 CH2

PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID
NO:91)

P2C4 CH3

GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:92)

Figura 13

P1A3 CH2

PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID
NO:93)

P1A3 CH3

GQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLCVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:94)

Figura 14

P2C4

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGEY YDSSGYYYWGQGT
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRP SGISNRFSGSKSDNMA SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVLNSGAGTAAATHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO:95)

P2H7

EVQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAMHWVRQAPGQSLEWMGWINTGNGNT
KYSQNFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCARDLGQLERLYFWGQGT
TVSSGGGGSGGGSGGGGS DIQMTQSPSTLSASVGDRVTLS CRAGQAISSWLAWYQQKPGK
APKLLIYKASNLESGVPSRFSGGGSGAEFTLTIS SLQPD DFATYYCQQYQSYPTFGQGT
KL EIR (SEQ ID NO:96)

P2D12

HVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LGDYWGQGT
TVTVSSGGGGSGGGSGGGGS DIQLTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDIGNYLNWYQLKPGKAPKLLIYDA
SNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISS LQPE DIATYYCLQLYDYPLTFGGG
TKVEIK (SEQ ID NO:97)

P1G11

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSSGDAFDIWGQGTMTVSSGGGG
SGGGSGGGGS NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVI
FDDNQRP TGVPDRFSA AIDTSSSSASLTISGLTAEDEADYYCQSSHSTAVVFGGGTKLTVL
 (SEQ ID NO:98)

P2C4 A4

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGEY YDSSGYYYWGQGT
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGDYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRP SGISNRFSGSKSDNMA SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:99)

P2C4 A9

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGEY YDSSGYYNWGQGT
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRP SGISNRFSGSKSDNMA SLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:100)

Figura 15

P2C4 B1

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDNNRPSGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFG
GGTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:101)

P2C4 B5

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPISGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFG
GGTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:102)

P2C4 B6

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQH
PGTAPKLIYDINNRPISGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:103)

P2C4 B8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQPPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPISGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFG
GGTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:104)

P2C4 B12

EVQLVQSGAEVKKPGSTVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFISWYQQH
PGTAPKLIYDFNNRPSGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:105)

P2C4 C1

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGPV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGDYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPISGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:106)

P2C4 C4

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SY PQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDNNRPSGISNRFSGSKSDNMASTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFG
GGTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:107)

Figura 15 (cont.)

P2C4 C7

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GGTKLTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:108)

P2C4 C12

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSNGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GGTKLTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:109)

P2C4 D10

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GGTKLTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:110)

P2C4 E2

EVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
VSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQH
PGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GKLTTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:111)

P2C4 E3

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELNSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
VSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQH
PGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GKLTTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:112)

P2C4 E6

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGDYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GKLTTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:113)

P2C4 E7

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLTV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTLVFVG
GGTKLTVLAAAHHHHH (SEQ ID NO:114)

Figura 15 (cont.)

P2C4 E8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:115)

P2C4 E9

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
VSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQH
PGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGG
GTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:116)

P2C4 F8

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGNPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:117)

P2C4 F11

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAMYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSTLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:118)

P2C4 G2

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRTEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGSGGVGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:119)

P2C4 G11

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:120)

P2C4 H1

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
NVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAAHHHHH (SEQ ID NO:121)

Figura 15 (cont.)

P2C4 H2

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSNYYMHWVRQAPGQGLEWIGAIMPSRGGTS
YPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQH
PGTAPKLIIDINNRPISNRFSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFGG
GTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:122)

P2C4 H3

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKATGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPISNRFSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVLAAAHHHHHH (SEQ ID NO:123)

P2C4 C1D10

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYQKFQGRVTMTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGPV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGDYDFVSWYQQ
HPGTAPKLIIDINNRPISNRFSKSDNMASLTISGLQPEDEADYYCSAYTSSDTVVFG
GGTKLTVL (SEQ ID NO:154)

P2C4 FW2

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIMPSRGGT
SYQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGEYYDSSGYYYWGQGLVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGTSSDIGHYDFVSWYQQ
PGTAPKLIIDINNRPISNVDRFSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCSAYTSSDTLVFGG
GTKLTVL (SEQ ID NO:155)

Figura 15 (cont.)

P1A3

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTSLTVSS
GGGGSGGGSGGGGSDVVMTSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQK
 PGQSPQLLIYLGSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFG
 QGTKVEIK**NSGAGTAAATH**TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 ENNYKTTTPVLDSDGSFFLCVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
 K (SEQ ID NO:124)

P2B9

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYY
 NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGDILTYALDYWGQGTSLTVSSGG
GGSGGGSGGGGSSYELTQPPSMSVSPGQTARITCSGDALPKQFAFWYQQKPGQAPVL
 VIYKDTERPSPGIPERFSGSSSGTTLTITGVQAEDEADYYCQSPDSSSGTVEVFGGGTKLTV
 L (SEQ ID NO:125)

P1A3 B3

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNYN
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTSLTVSS
GGGGSGGGSGGGGSDVVMTSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQK
 PGQSPQLLIYLGSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFG
 QGTKVEIKAAAHHHHHH (SEQ ID NO:126)

P1A3 B4

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNYN
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTSLTVSS
GGGGSGGGSGGGGSDVVMTSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQK
 PGQSPQLLIYLGSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFG
 QGTKVEIKAAAHHHHHH (SEQ ID NO:127)

P1A3 E8

QVQLQQWGAGMLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNY
 NPSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGTSLTVSS
GGGGSGGGSGGGGSDVVMTSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQK
 PGQSPQLLIYLGSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFG
 QGTKVEIKAAAHHHHHH (SEQ ID NO:128)

Figura 16

P1A3 E9

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHFGSTNYN
PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATSPGGYSGGYFQHWGQGT LTVSS
GGGGSGEGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQK
PGQSPQLLIYLGSNRDSGVPDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFG
QGTKVEIKAAAHHHHH (SEQ ID NO:129)

P1A3 FW2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFSGYYWSWVRQAPGKGLEWVSEINHSGSTNY
NPSLKSRTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPGGYSGGYFQHWGQGT LTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLLSNGYNYLDWYQQ
KPGKAPKLLIYLGSNRDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQGTHWPWTF
GQGTKVEIK (SEQ ID NO:156)

Figura 16 (cont.)

Ntd de la cadena ligera de Fab P2C4 (VL, articulación, CL):

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCGCCA
TTTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACATTGGTCATTATGACTTTGTCTCCTGGTACCAA
CAGCACCCAGGCACAGCCCCCAAACCTCATAATTTATGATATCAATAATCGGCCCTCAGG
GATTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGACAATATGGCCTCCCTGACCATCTCTG
GGCTCCAGCCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGTGCATATACAAGCAGCGACAC
TCTGGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGTTGACCGTCCTCAGTCAGCCCAAGGCTGCCCC
CTCGGTCACTCTGTTCCCAACCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCCACTG
GTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATA
GCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACACACCCTCCAAACAAAGCAACAACA
AGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAAAA
GCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTA
CAGAATGTTCA (SEQ ID NO:130)

Ntd de la cadena pesada de Fab P2C4 (VH, articulación, CH):

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCCTCAGTGAAG
GTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCACCAACTACTATATGCACTGGGTGCGACA
GGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGGCAATCATGCCTAGTCGTGGTGGCAC
AAGTTACCCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCGGGGACACGTCCACGAG
CACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGGGAGTATTACTATGATAGTAGTGGTTATTACTACTGGGGCCAGGGCACCC
TGGTCACCGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC
CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
CCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACAC
CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA
ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:131)

Figura 17

Ntd de scFv P2C4 (scFv y Fc con modificación de la llave):

GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCAGAAAGTAAAAAGCCTGGGTCAAGCGTGAAG
GTCTCCTGTAAAGCAAGCGGATACACATTCACAACTACTATATGCACTGGGTGCGGCA
GGCCCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGCTATCATGCCTTCCCGAGGCGGGA
CTTCTTACCCACAGAAGTTCCAGGGAAGAGTGACCATGACAGGCGACACTAGCACCTC
CACAGTCTATATGGAGCTGAGCAGCCTGAGGAGCGAAGACACTGCCGTGTACTATTGC
GCTCGCGGAGAATACTATTACGATTCTAGTGGCTATTACTATTGGGGGCAGGGAACACT
GGTGAAGTGTCTCAAGCGGAGGAGGAGGAAGTGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGCG
GGTCTCAGAGTGCAGTACCCAGCCAGCATCAGTGAGCGGCAGCCCCGGCCAGTCTA
TCGCAATTAGTTGTAAGTGGGACCTCCTCTGACATCGGACACTACGATTTCTGCTCTTGG
TATCAGCAGCACCCCGGACCCGCTCCTAAGCTGATCATCTACGACATCAACAATCGGC
CCAGCGGCATTTCCAACAGATTTTCTGGGAGTAAATCAGATAATATGGCCTCACTGACA
ATTAGCGGCCTCCAGCCTGAGGACGAAGCTGATTACTATTGCTCCGCATACACTAGTTC
AGATACCCTGGTGTGGAGGCGGGACCAAACTGACAGTCCTGAACAGCGGCGCGGG
CACCGCGGCGCGGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCGCGGGGG
GACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTT
CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA
GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTGCAGCGTCTCACCCTGCTGACCCAGGACTGG
CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC
CCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGG
CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA
CTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAG
CTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
(SEQ ID NO:132)

Ntd de la cadena λ líder de Fab de P2H7 (VL, articulación, CL):

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACATTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC
ACTCTCTTGCCGGGCGCGGTGAGGCTATTAGTAGTTGGTTGGCCTGGTATCAACAGAAA
CCAGGTAAAGCCCCAAAGCTTCTGATCTATAAGGCATCTAATTTAGAAAGTGGAGTCCC
ATCAAGGTTGAGCGGCGGTGGATCTGGGGCAGAATCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATCAGAGCTACCTTACACTTTT
GGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAGACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT
TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT
AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG
GTAAGTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCA
GCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGA
AGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
(SEQ ID NO:133)

Figura 17 (cont.)

Ntd de Fab de la cadena pesada de P2H7 (VH, articulación, CH)

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGACTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG
GTTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACTACCTATGCTATGCATTGGGTGCGCCA
GGCCCCCGGACAAAGCCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACACTGGCAATGGTAACACA
AAATATTCACAGAACTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCA
CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC
GAGAGATCTCGGGCAACTGGAACGACTCTACTTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAC
CGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG
AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA
CCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCA
GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA
GGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:134)

Ntd de scFv de P2H7 (scFv y Fc con modificación de la llave):

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGACTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG
GTTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACTACCTATGCTATGCATTGGGTGCGCCA
GGCCCCCGGACAAAGCCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACACTGGCAATGGTAACACA
AAATATTCACAGAACTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCA
CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGC
GAGAGATCTCGGGCAACTGGAACGACTCTACTTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAC
CGTCTCAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGAGGAGGAGGAGTGGAGGAGGAGGGTCAC
TTGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACATTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC
ACACTCTCTTGCCGGGCGCGGTGAGGCTATTAGTAGTTGGTTGGCCTGGTATCAACAGA
AACCAGGTAAAGCCCCAAAGCTTCTGATCTATAAGGCATCTAATTTAGAAAGTGGAGTC
CCATCAAGGTTTCAGCGGCGGTGGATCTGGGGCAGAATTAATCTCACCATCAGCAGCC
TGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATCAGAGCTACCCTTACACTT
TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAGAAACAGCGGCGCGGGCACCCGCGGCCGCG
ACTCACACATGCCCACCGTGCCCGAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCGTCAGTCTTC
CTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAT
GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG
ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCA
CGTACCGTGTGGTACGCTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG
AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTC
CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGA
TGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGC
GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGCAACTACAAGACCAGC
CCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA
AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO:135)

Figura 17 (cont.)

Ntd de Fab de la cadena ligera de P2D12 (VL, articulación, CL):

GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTGGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCTTAAAC
CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCC
ATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTACCATCAGCAGCCTGC
AGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCTACAACTTTATGATTACCCCCCTCACTTTTCG
GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT
CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATA
ACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC
AGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAG
TCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
(SEQ ID NO:136)

Ntd de la cadena pesada de Fab de P2D12 (VH, articulación, CH):

CACGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGC
CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGC
ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGA
ACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTG
TGCGAGAGATCTCGGGGATTATTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCAAGCGC
CTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGT
CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA
GTTGAGCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:137)

Figura 17 (cont.)

Ntd de scFv P2D12 (scFv y Fc con modificación de la llave):

CAGGTCCAGCTGCAGGAGTCCGGGGCCAGGGCTGGTGAAACCAAGCGAAACACTGAGT
CTGACATGTACCGTGAGTGGGGGGTCCATTAACAATAGTAACTACTATTGGTCATGGAT
CAGACAGAGCCCTGGAAGAGGCCTGGAGTGGATCGGCGGGATCTACTTCAGCGGCAC
CACATACTATAACCCATCACTGCAGAGCCGGGTGACTATCTCCATTGACACCTCTAAGA
ATCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACCGCCGCTGATACAGCCATCTACTATTG
CGTCCGGCAGATGAATTACTATCACCTGGGCTCTAGTGTGGGGTTCGACCCCTGGGGA
CAGGGAGCACTGGCCACCGTGTCAAGCGTCTCCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG
AGGAGGCTCTGGAGGAGGCGGGAGTGTGTGGTTCATGACACAGAGCCAGCTACTCT
GTCTGTGAGTCCCGGCGAAAGGGCCACACTGAGCTGTGCGGCTTCACAGAGCGTCAG
TTCAAACCTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCACCTTCCCTGCTGATCTAT
GAGGCTTCTACACGAGCAACTGGCATTCTCTGCTAGATTCTCCGGCTCTGGGAGTGGAA
CCGACTTTACTCTGACCATCAGCTCCCTGCAGAGCGAAGATTTTGCAATCTACTATTGT
CAGCAGTATAACGATTGGCTGTGGACCTTCGGGCGAGGGGACTAAAGTGGAGATTCCGA
ACAGCGGCGCGGGCACCAGCGGCGCGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCT
GAAGCCGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCA
TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC
CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC
GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC
CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG
GTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGG
TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCT
TCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG
TCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO:138)

Ntd de la cadena ligera de Fab de P1G11 (VL, articulación, CL):

AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGACGGTAACCA
TCTCCTGCACCCGCAGCAGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATGTGCAGTGGTACCAGCA
GCGCCCGGGCAGTTCCCCCACCACGGTCATTTTGGACGACAATCAAAGACCCACTGGT
GTCCCTGATCGCTTCTCTGCCGCCATCGACACCTCCTCCAGTTCTGCCTCCCTCACCAT
CTCTGGACTGACGGCTGAGGACGAGGCCGATTACTATTGTCAGTCGTCTCATAGCACC
GCTGTCGTCTTTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAAGTCAGCCCAAGGCTGCC
CCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACAC
TGGTGTGTCTCATAAGTGAATCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGA
TAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACACACCCTCCAAACAAAGCAACAA
CAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTCCACAA
AAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCC
TACAGAATGTTCA (SEQ ID NO:139)

Figura 17 (cont.)

Ntd de Fab de la cadena pesada de P1G11 (VH, articulación, CH):

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCC
CTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCC
AGCCCCCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCA
ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA
GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAAGCTCGTCCGGGGGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCT
CAAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCAC
CTCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT
GACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTTCCCGGCTGT
CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC
TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG
ACAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:140)

Ntd de scFv de P1G11 (scFv y Fc con modificación de la llave):

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCC
CTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCC
AGCCCCCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCA
ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA
GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAAGCTCGTCCGGGGGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCT
CAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGAGGAGGCAGTGGAGGAGGAGGGTCACTTAATT
TTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTGCGAGTCTCCGGGGAAGACGGTAACCATCTC
CTGCACCCGCGAGCAGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATGTGCAGTGGTACCAGCAGCG
CCCGGGCAGTTCCCCCACCACGGTCATTTTTGACGACAATCAAAGACCCACTGGTGTG
CCTGATCGCTTCTCTGCCGCCATCGACACCTCCTCCAGTTCTGCCTCCCTCACCATCTC
TGGACTGACGGCTGAGGACGAGGCCGATTACTATTGTGAGTCTCTCATAGCACCGCT
GTCGTCTTTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAAACAGCGGCGCGGGGACCGCG
GCCGCGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCACCACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA
CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGGAGGAGCAGTACAA
CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACC
ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCC
GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGGAGCAACTACAAGAC
CACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT
CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID
NO:141)

Figura 17 (cont.)

Ntd de la cadena ligera de Fab de P1A3 (VL, articulación, CL):

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT
CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGAT
TGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAACC
GGGACTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACT
GAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTACA
CACTGGCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCT
GCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTC
TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTG
GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC
ACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAG
CTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO:142)

Ntd de la cadena pesada de Fab de P1A3 (VH, articulación, CH):

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCC
CTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCC
AGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGAAGCACCA
ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGCCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA
GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
ACCAGCCCGGGAGGCTATTCCGGGGGATACTTCCAGCACTGGGGCCAGGGAACCCTG
GTCACCGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCT
CCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCT
TCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCC
CTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC
ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:143)

Figura 18

Ntd scFv de P1A3 (scFv y Fc con modificación de la cerradura):

CAGGTCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAACCATCTGAAACTCTGAGC
CTGACTTGCGCTGTCTACGGGGGGTCCTTCAGTGGCTACTATTGGTCATGGATCAGGC
AGCCCCCTGGGAAGGGACTGGAGTGGATCGGGGAAATTAACCACTCCGGATCTACAAA
CTACAATCCCAGTCTGAAATCACGCGCCACCATTCTGTGGACACCAGTAAGAATCAGT
TCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCTGATACCGCCGTGTACTATTGCGCAAC
CAGCCCTGGCGGATACTCCGGAGGCTATTTTCAGCATTGGGGCCAGGGGACCCTGGT
GACAGTCTCTAGTGGGGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTGGAGGAGGAGGCT
CCGACGTGGTCATGACTCAGAGCCCACTGTCCCTGCCAGTGACCCCCGGCGAGCCTG
CTAGTATCTCATGTGATCAAGCCAGTCACTGCTGCACAGCAACGGGTACAATTATCTG
GATTGGTACTTGCGAAGCCAGGCCAGTCTCCCCAGCTGCTGATCTATCTGGGCTCCA
ACCGGGACTCTGGGGTGCCTGATAGATTAGCGGCAGCGGCTCTGGGACTGACTTTAC
CCTGAAAATTTCCAGAGTCGAGGCAGAAGATGTGGGAGTCTACTATTGCATGCAGGGC
ACTCATTGGCCCTGGACCTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAGAACAGCGGC
GCGGGCACCGCGGCCGCGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTG
GGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA
AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTGCAGCGTCCCTACCGTCTGACCCAGGA
CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCC
ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCC
TGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTCTGCGCCGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA
ACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTGAG
CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
AAA (SEQ ID NO:144)

Ntd de la cadena ligera de Fab de P2B9 (VL, articulación, CL):

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCGATGTGAGTGTCCCCAGGACAGACGGCCAGGA
TCACCTGCTCTGGAGATGCATTGCCAAAACAATTTGCTTTTTGGTACCAGCAGAAGCCA
GGCCAGGCCCTGTGTTGGTGATTTATAAAGACACTGAGAGGCCCTCAGGGATCCCTG
AGCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGGACAACAGTCACGTTGACCATCACTGGAGTCCA
GGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTCAATCTCCAGACAGCAGTGGTACCGTCGAA
GTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTAGGTGAGCCCAAGGCTGCCCCCTCG
GTCACCTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGT
GTCTCATAAGTGAATTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAG
CCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAACAAAGCAACAACAAGTAC
GCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTCCACAGAAGCTAC
AGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTGCAGAA
TGTTCA (SEQ ID NO:145)

Figura 18 (cont.)

Ntd de la cadena pesada de Fab de P2B9 (VH, articulación, CH):

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCC
CTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGGCTGGA
TCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGA
GCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAA
GAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTAC
TGTGCGGGCGATATTTTGAAGTGGTTATGCCCTTGACTACTGGGGGCCAGGGAACCCTGG
TCACCGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC
CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC
CGAACCAGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTT
CCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACA
CCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT (SEQ ID NO:146)

Ntd de scFv de P2B9 (scFv y Fc con modificación de la cerradura):

CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGACCCGGACTGGTGAAGCCATCTGAAACACTGAGC
CTGACTTGTACCGTGAGCGGCGGAAGCATCAGCTCCTCTAGTTACTATTGGGGATGGA
TCAGGCAGCCCCCTGGCAAGGGGCTGGAGTGGATCGGCAGCATCTACTATAGCGGCT
CCACATACTATAACCCTAGCCTGAAATCCCGCGTGACAATCTCTGTGGACACTAGTAAG
AATCAGTTCTCTCTGAAACTGTCAAGCGTGACCGCCGCTGATACAGCTGTCTACTATTG
CGCAGGCGACATTCTGACCGGGTACGCCCTGGATTATTGGGGACAGGGGCACTCTGGT
GACCGTCTCCTCTGGAGGAGGAGGCTCAGGAGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGGGGAA
GTTTCATACGAACTGACACAGCCACCCTCTATGAGTGTGTCAACAGGGCAGACTGCACG
AATCACCTGTAGCGGAGACGCCCTGCCAAGCAGTTCGCTTTTTGGTATCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCAGTGCTGGTCATCTATAAGGATACTGAGCGGCCCTCTGGGATTC
CTGAAAGATTCACTGGCAGCAGCAGCGGAACACAGTGACTCTGACCATTACAGGCGT
GCAGGCAGAGGACGAAGCCGATTACTATTGCCAGTCCCCCGACAGTTCAGGCACCGT
GGAGGTCTTTGGCGGGGGAACAAAAGTACTGTGCTGAACAGCGGCGCGGGCACCAGC
GGCCGCGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTC
AGTCTTCCTCTTCCCCCAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGT
ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA
ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACC
ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCC
CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTCCTGCGCCGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGA
CCACGCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTGAGCAAGCTCACCGT
GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC
TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID
NO:147)

Figura 18 (cont.)

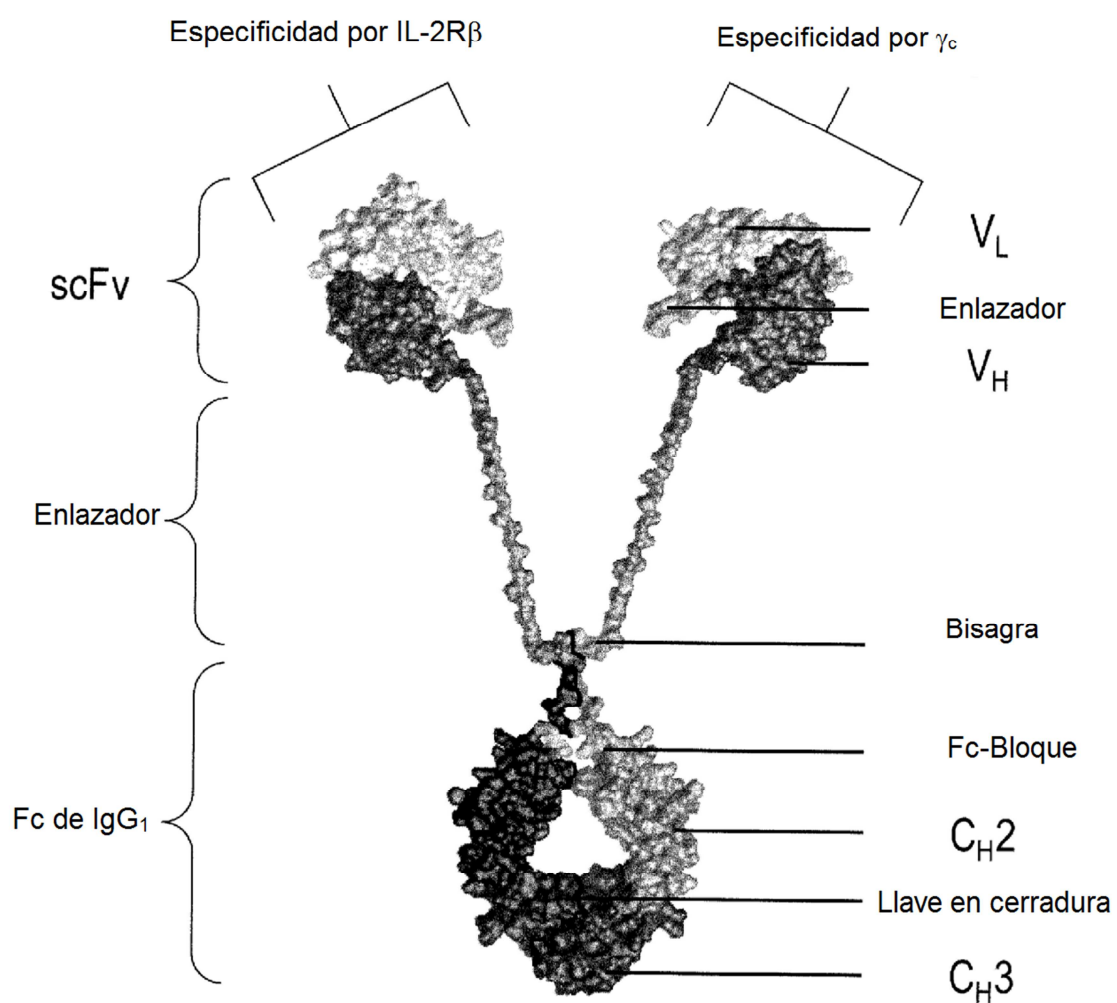


Figura 19

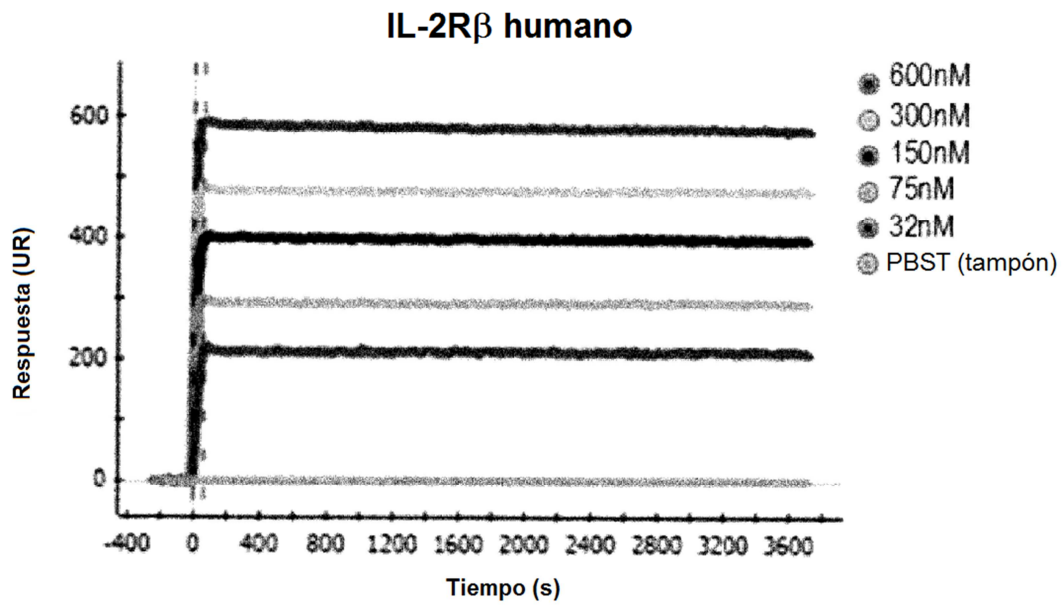


Figura 20A

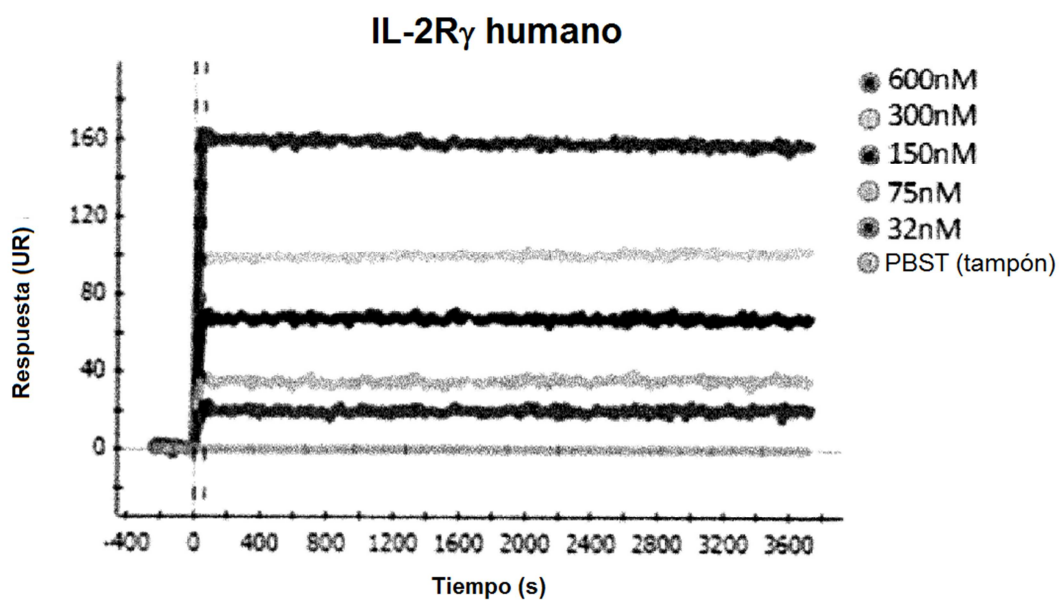


Figura 20B

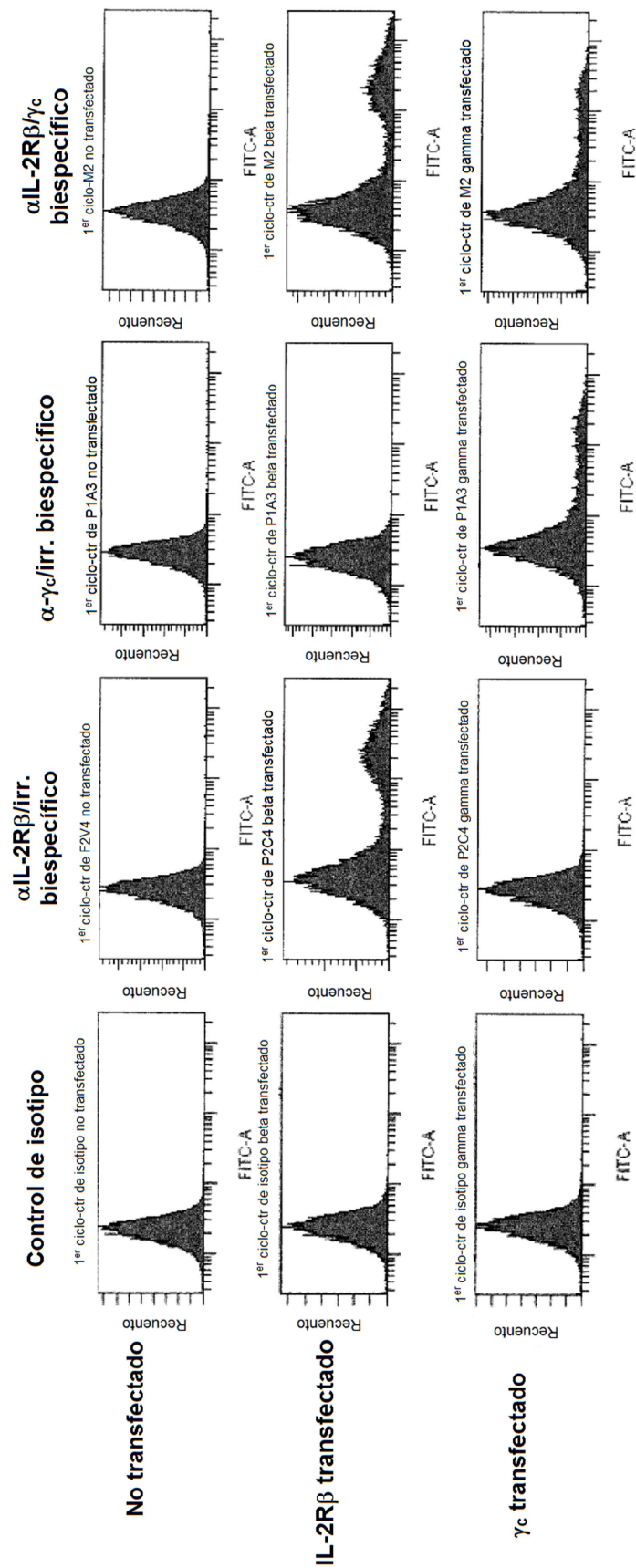


Figura 21A

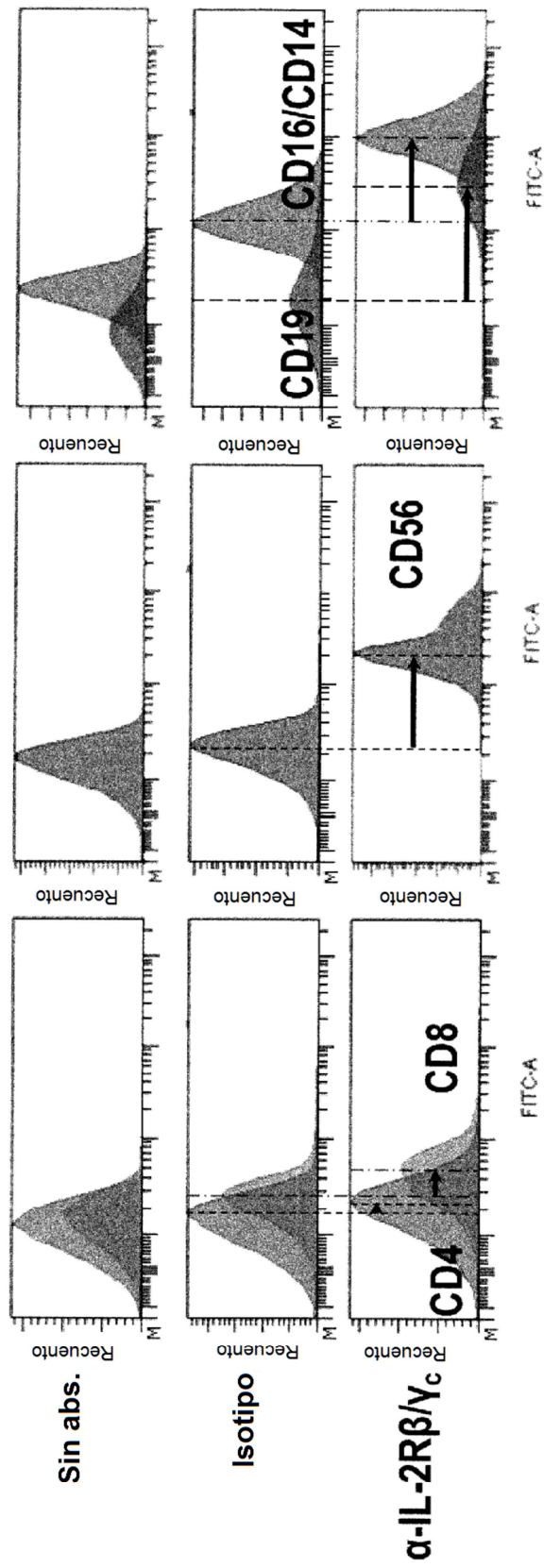


Figura 21B

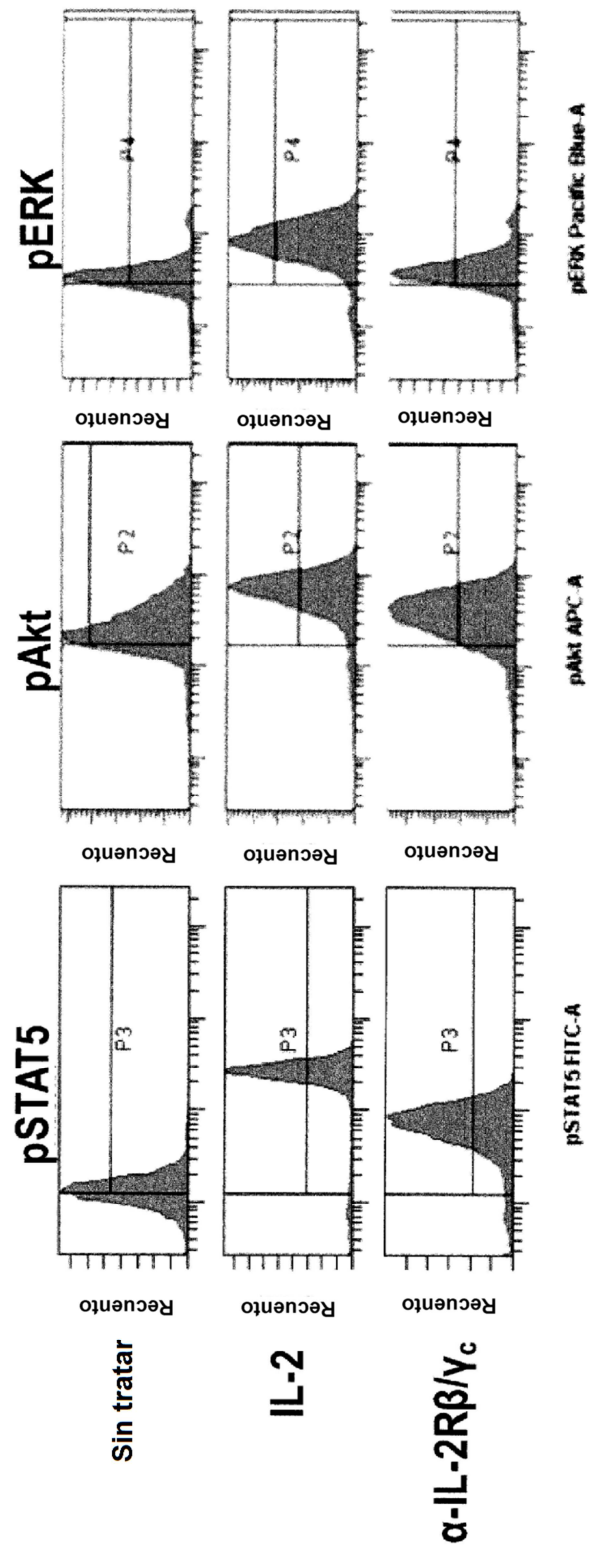


Figura 22

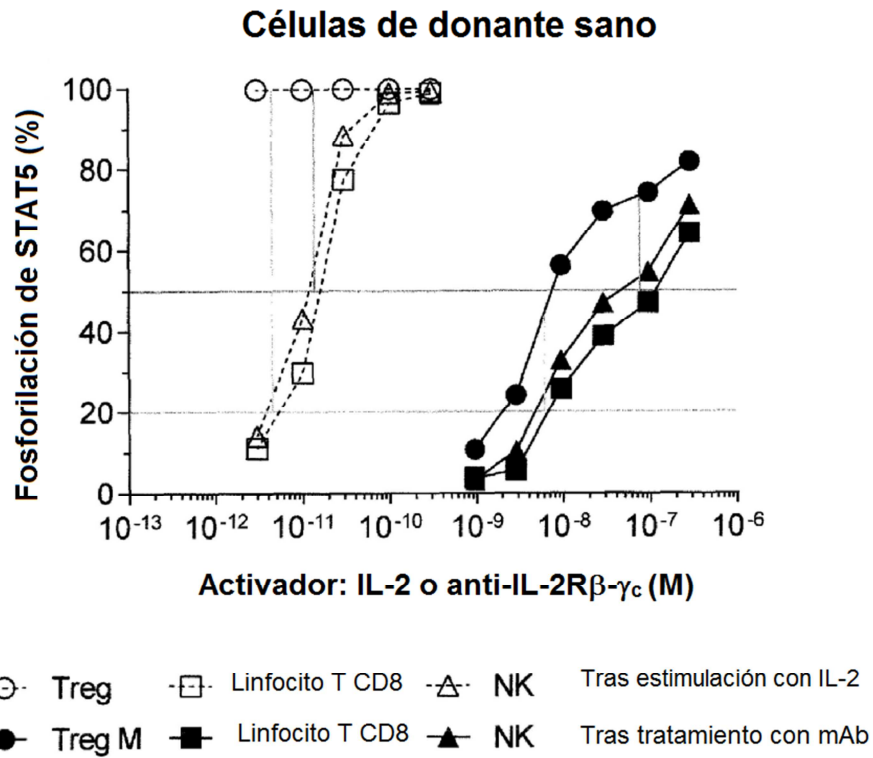


Figura 23

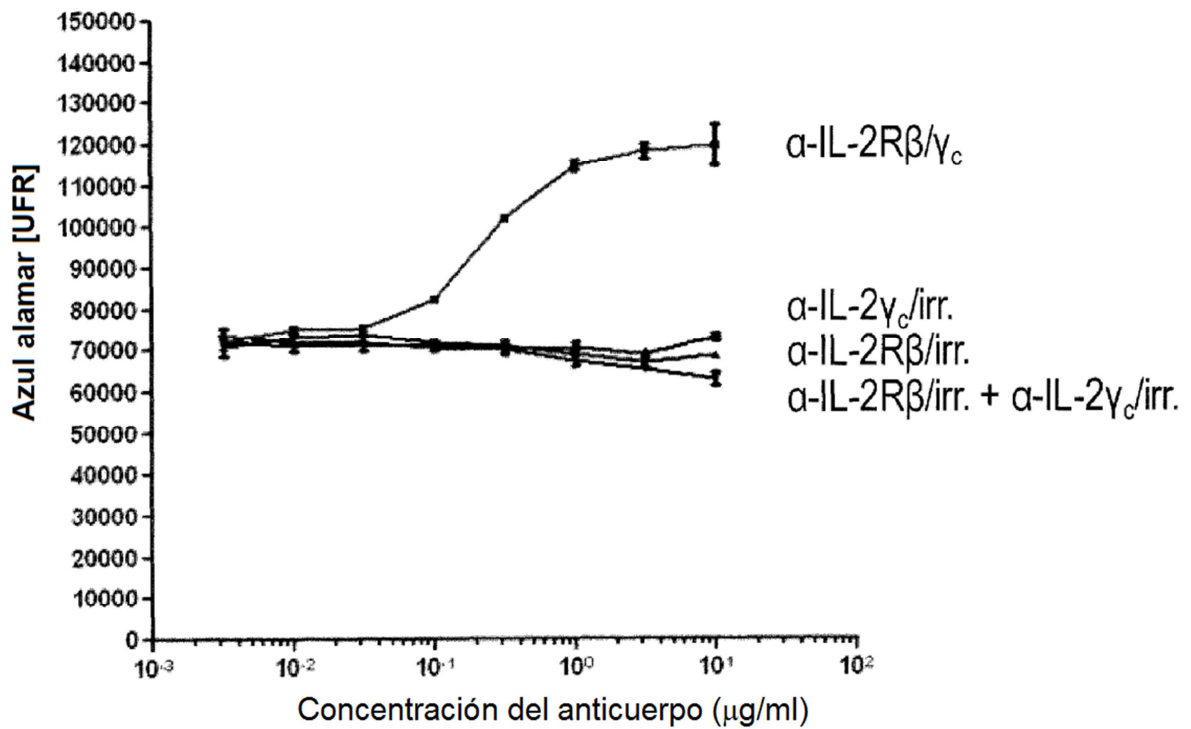


Figura 24

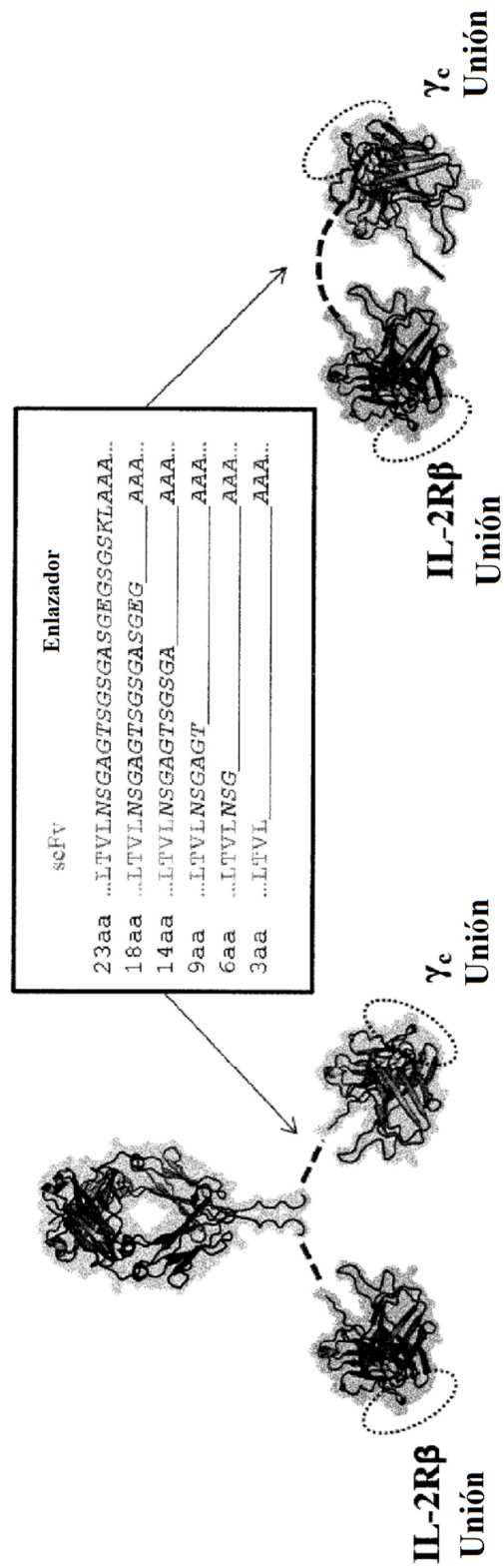


Figura 25A

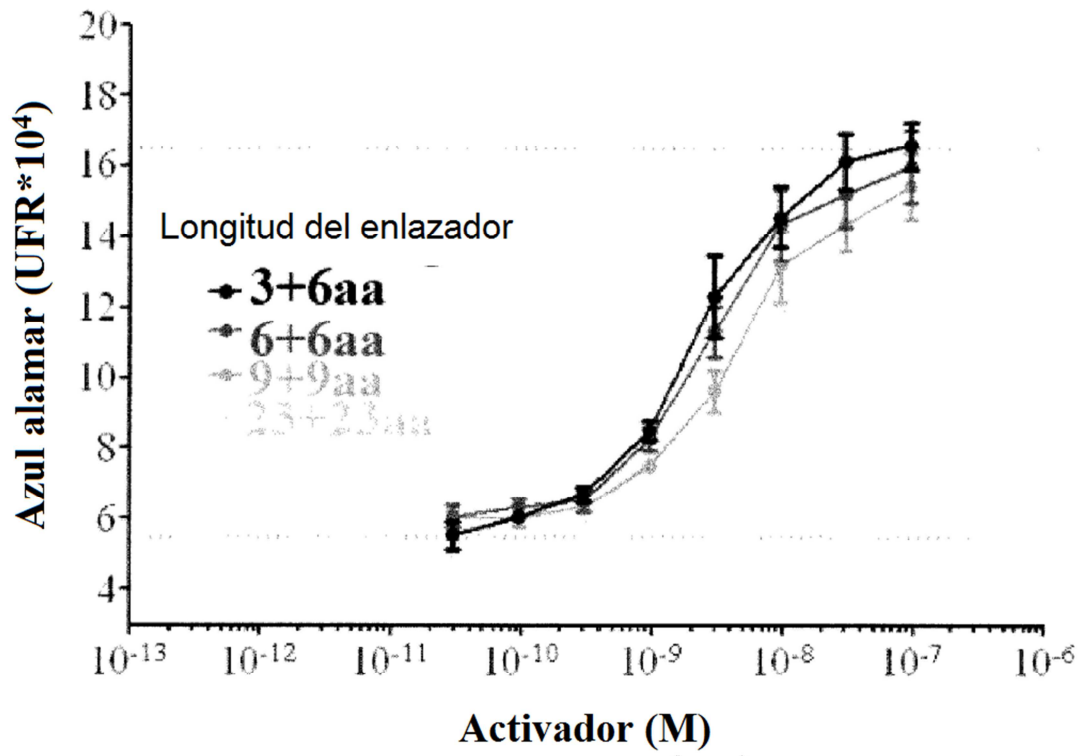


Figura 25B

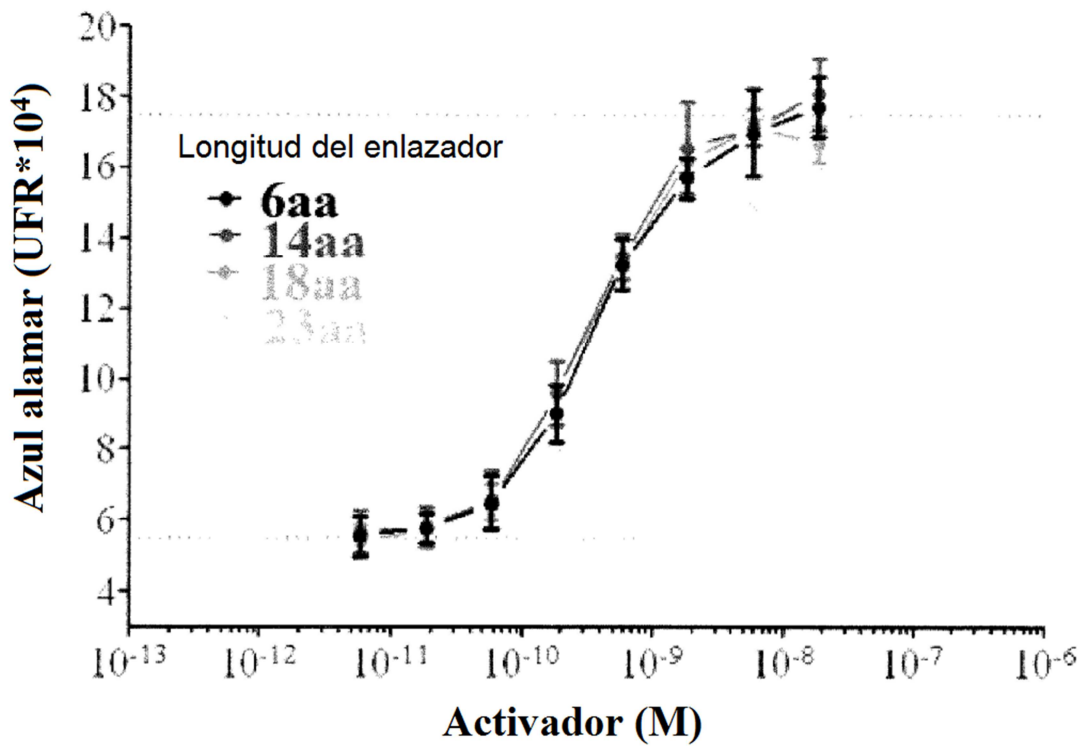


Figura 25C

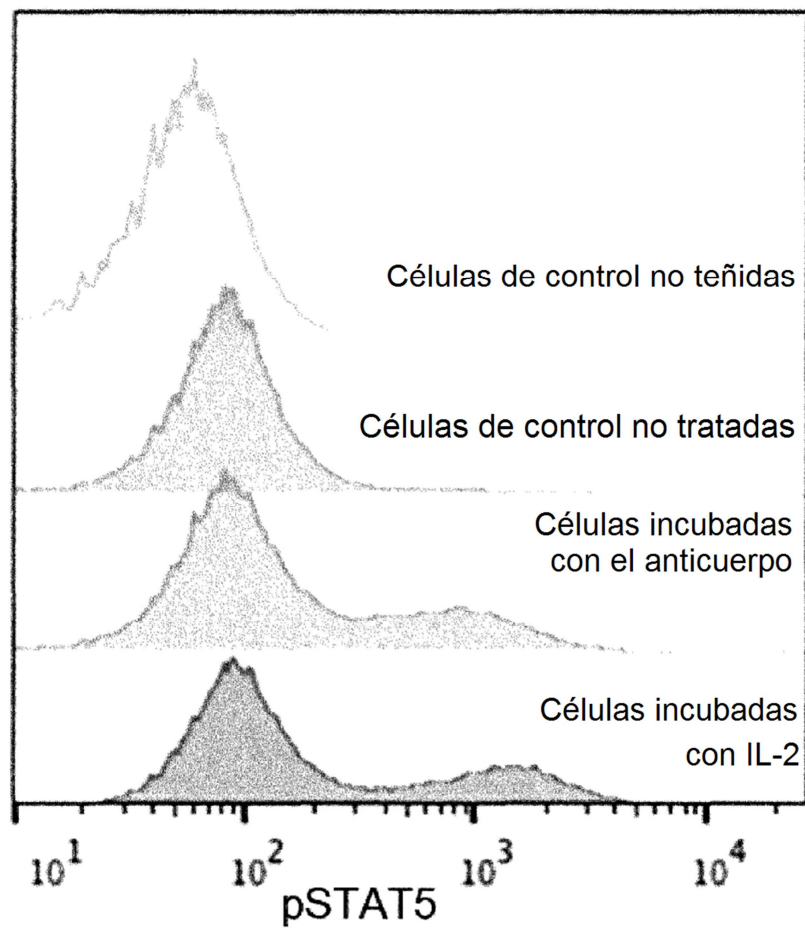


Figura 26

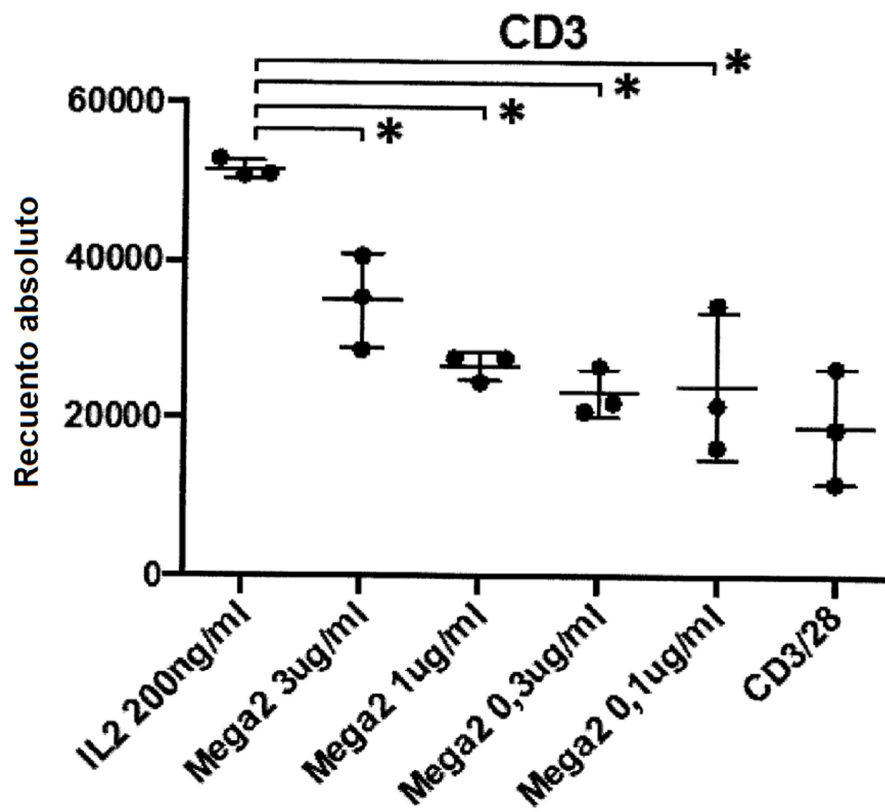


Figura 27A

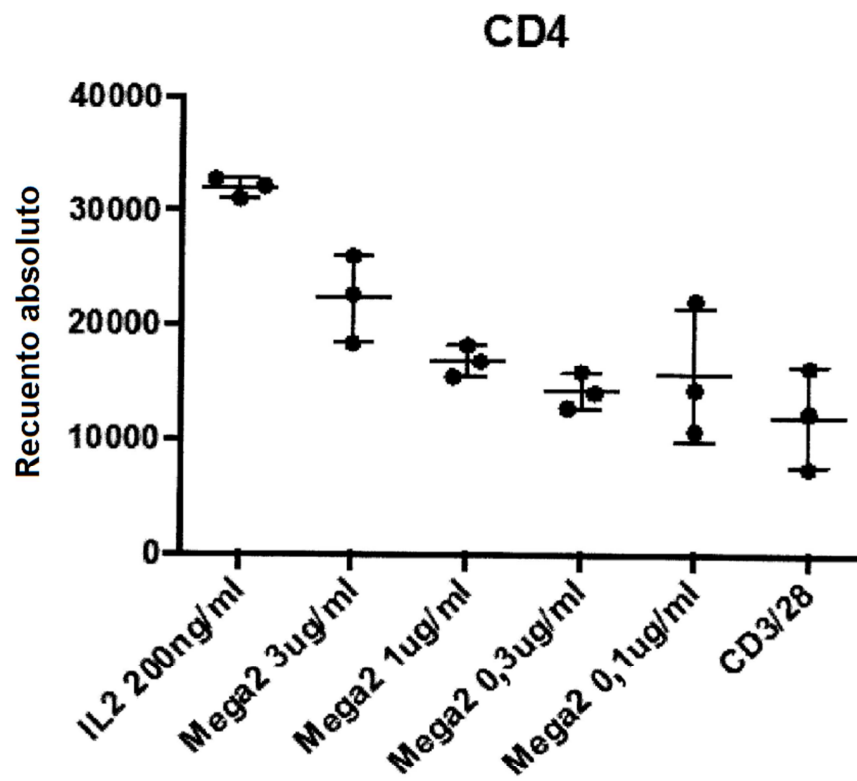


Figura 27B

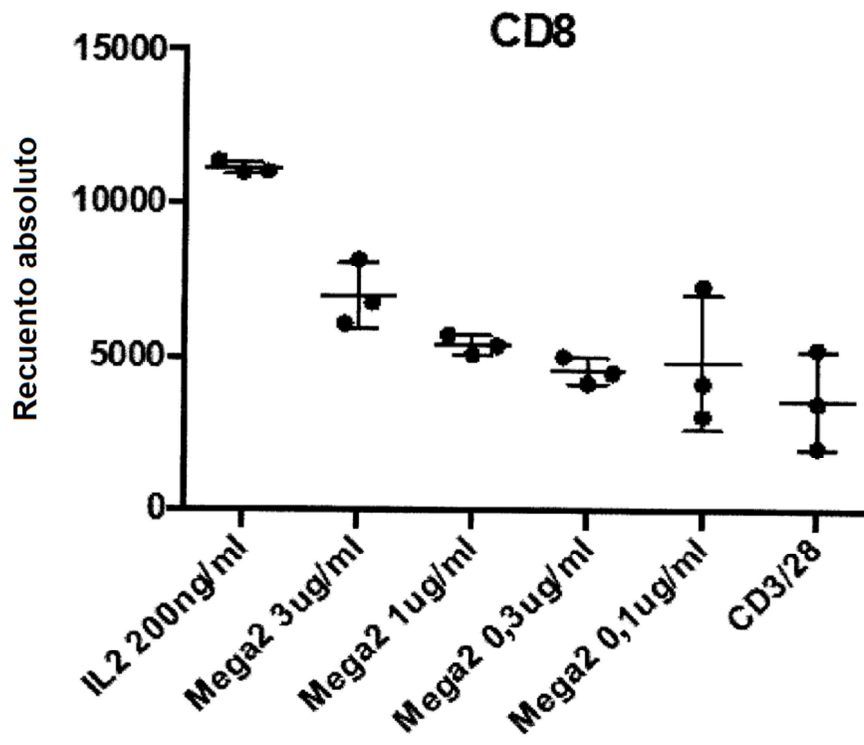


Figura 27C

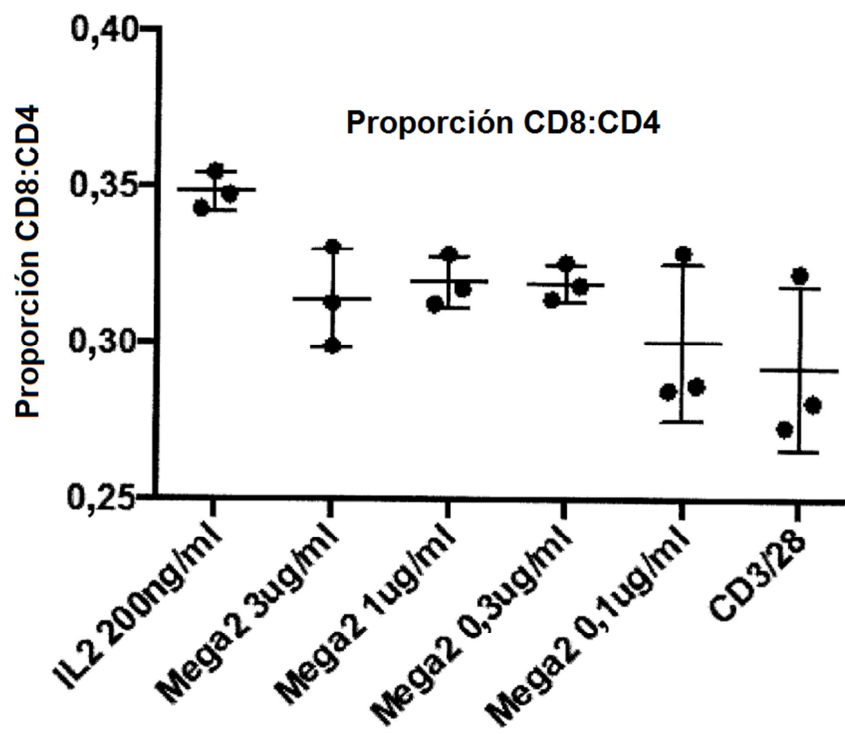


Figura 27D

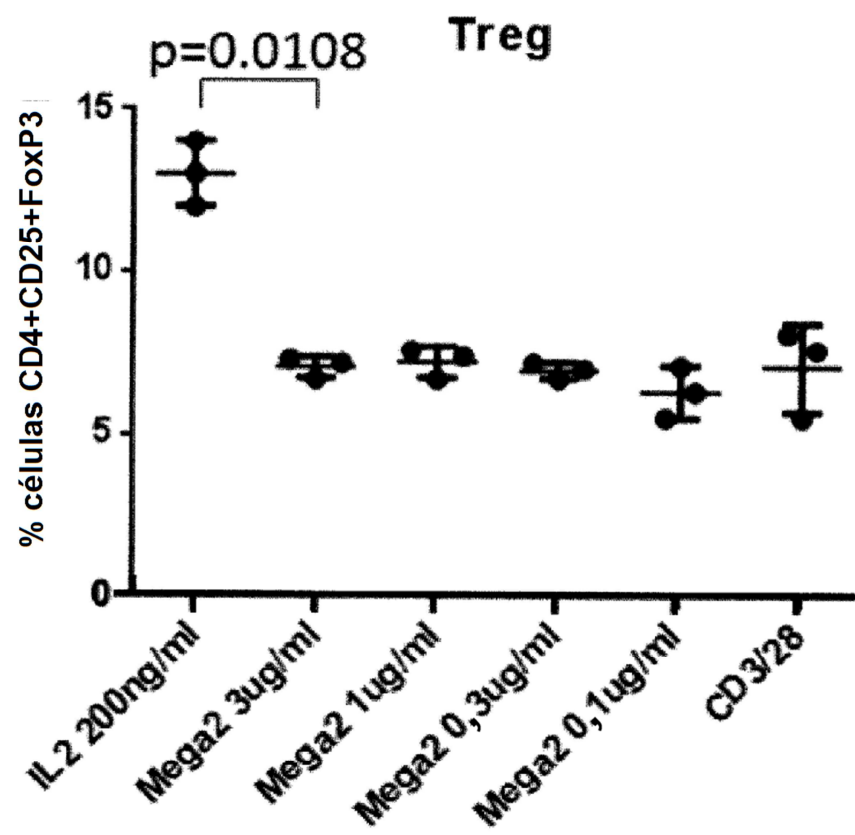


Figura 28

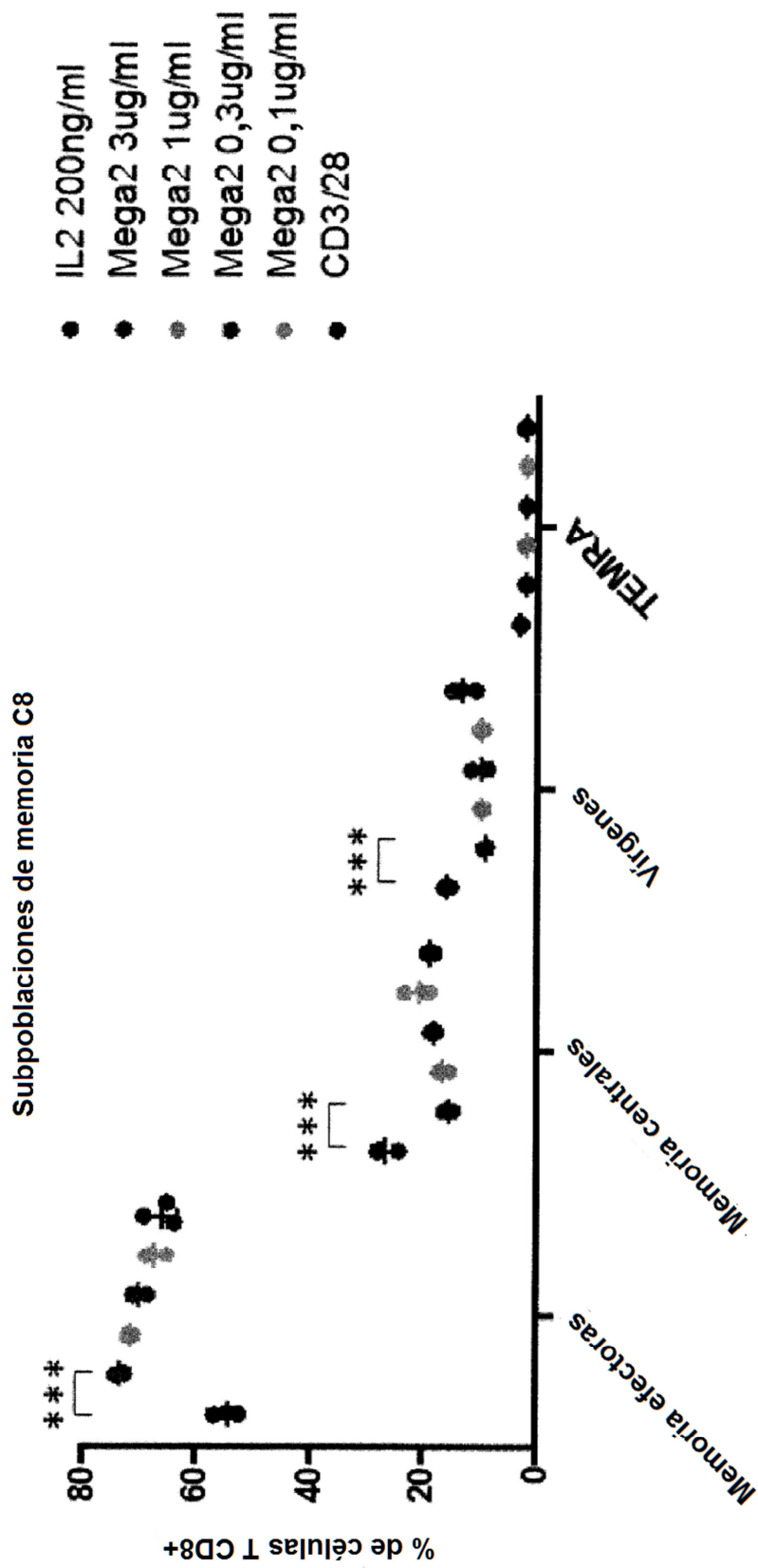


Figura 29

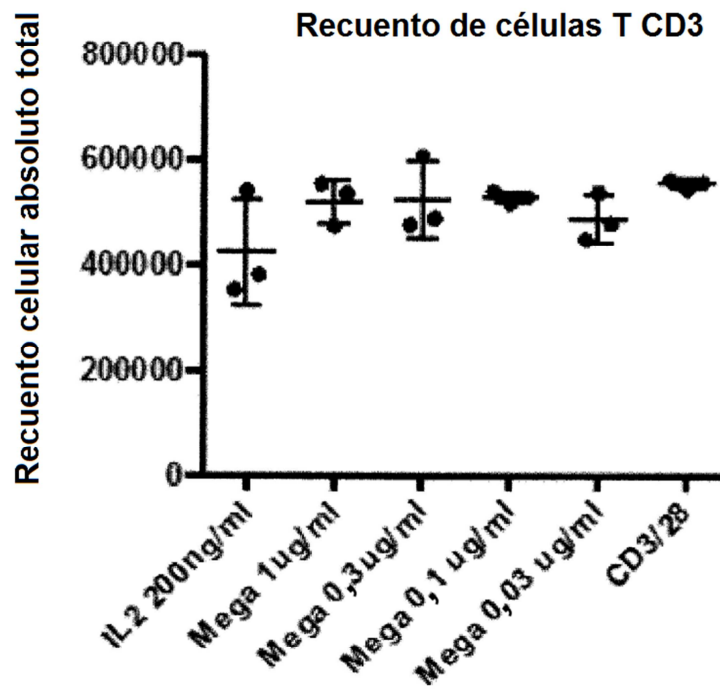


Figura 30A

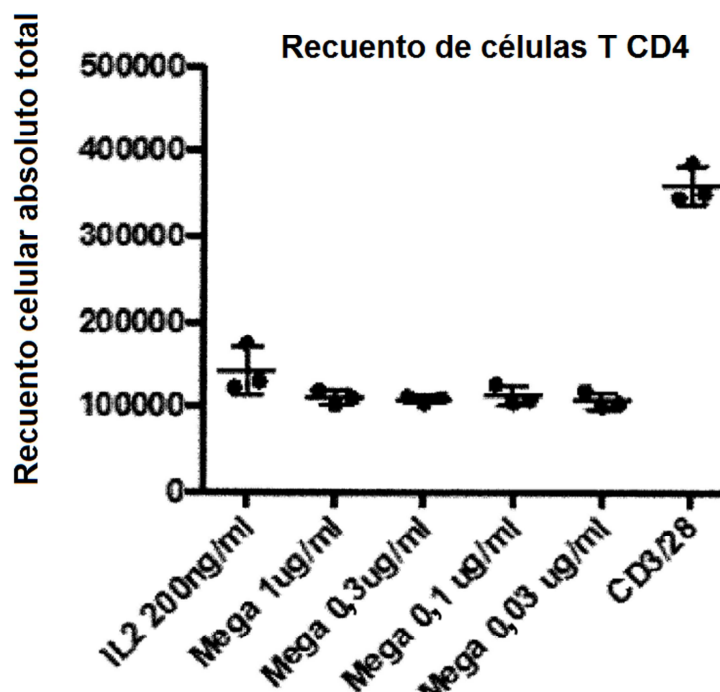
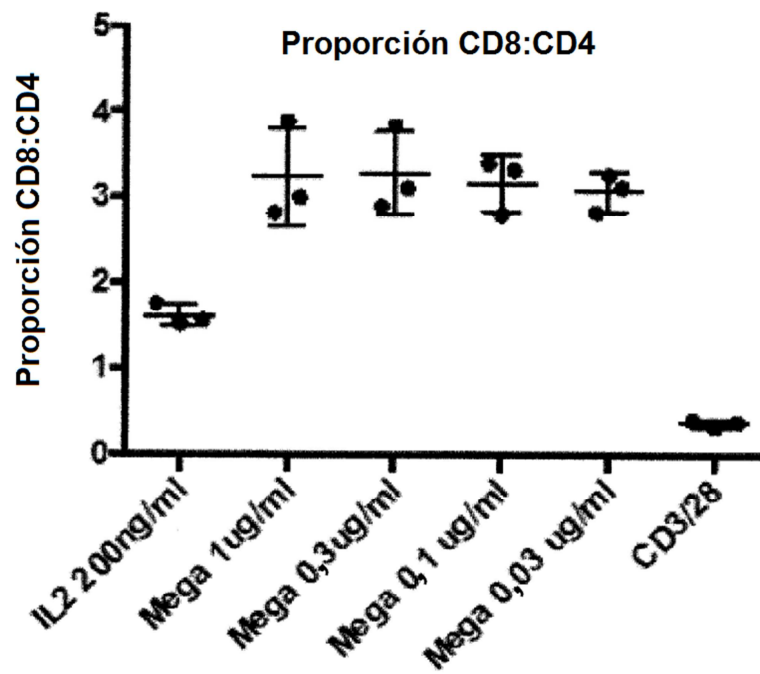
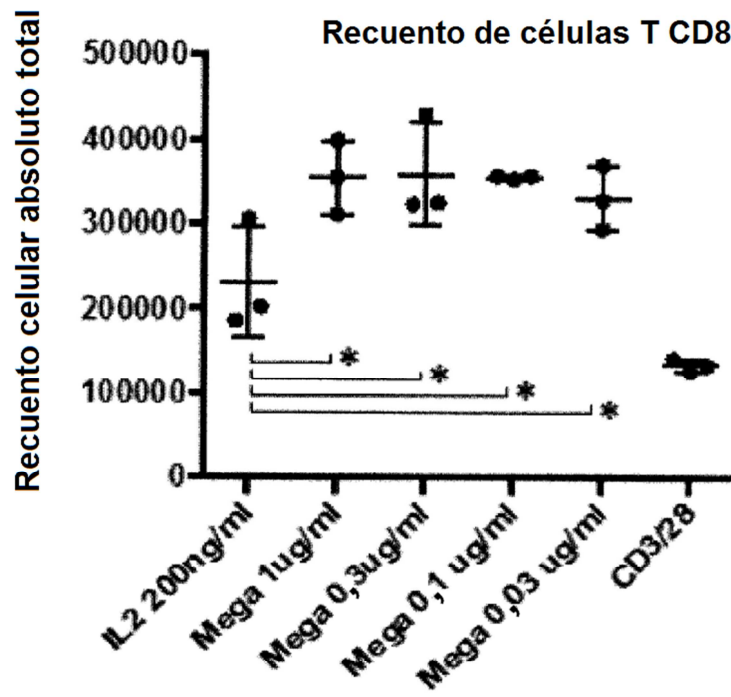


Figura 30B



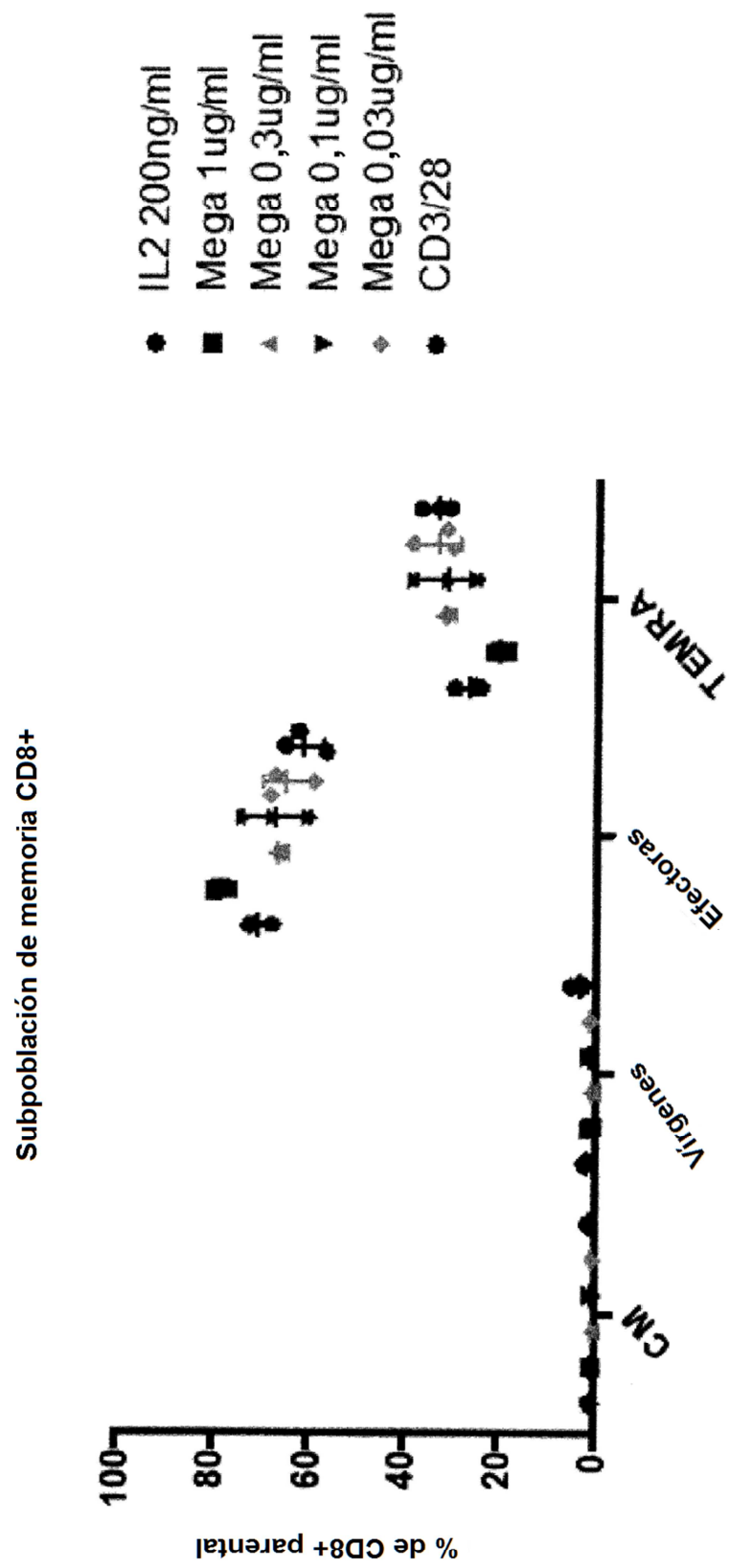


Figura 31A

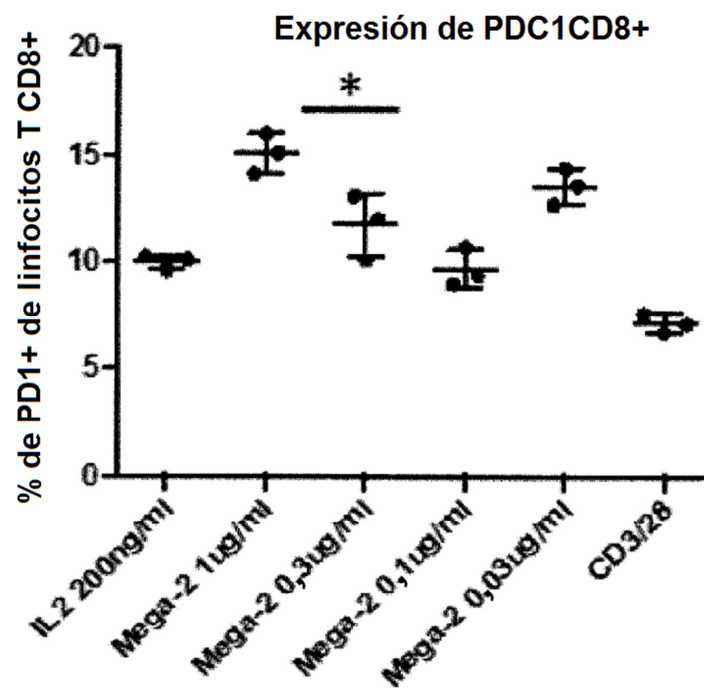


Figura 31B

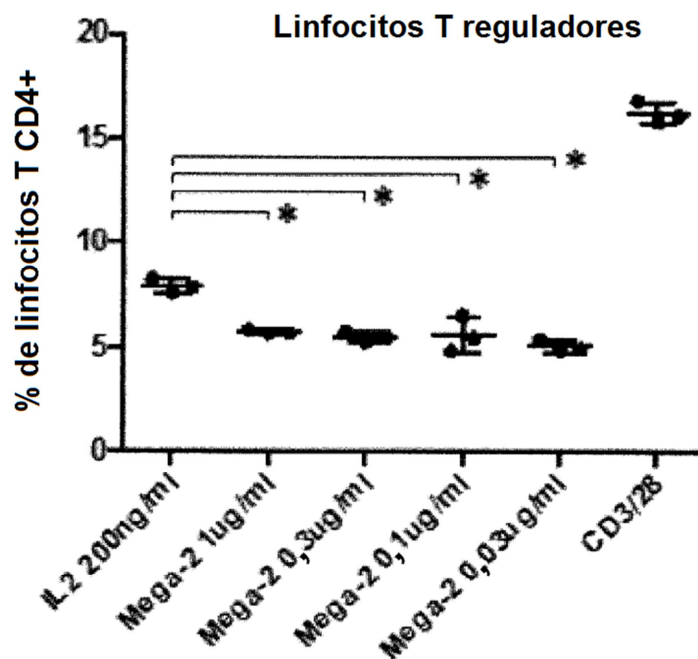


Figura 31C

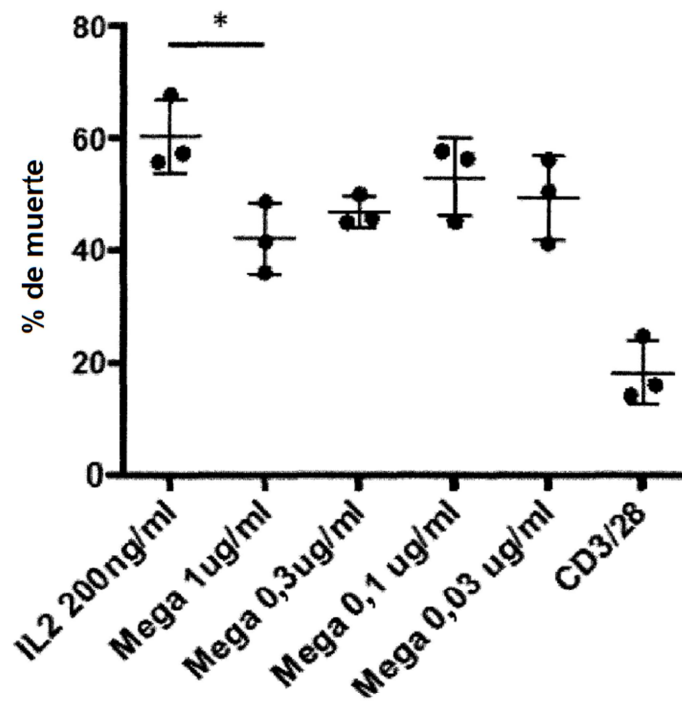
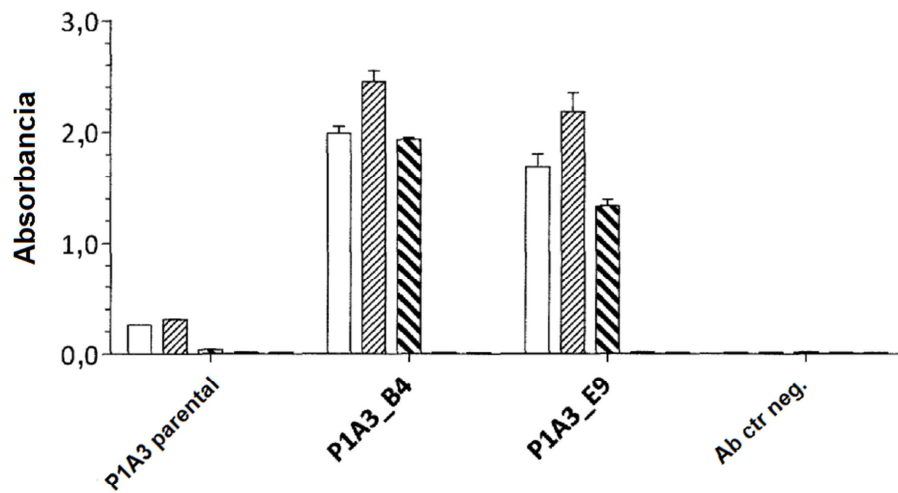


Figura 32

Estabilidad térmica del clon P1A3 y derivados
Experimento 1/2



Unión a IL-2R γ C después de calentar a:

4°C
 50°C
 55°C
 60°C
 65°C

Figura 33A

**Estabilidad térmica del clon P1A3 y derivados
Experimento 2/2**

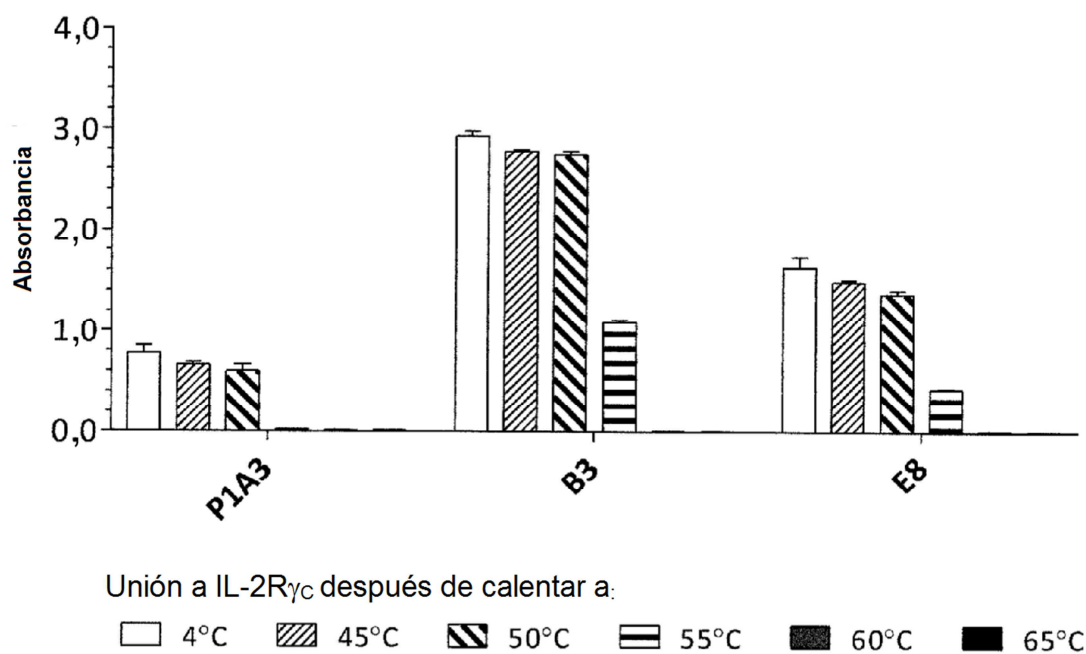


Figura 33B

Estabilidad térmica del clon P2C4 y derivados
Experimento 1/2

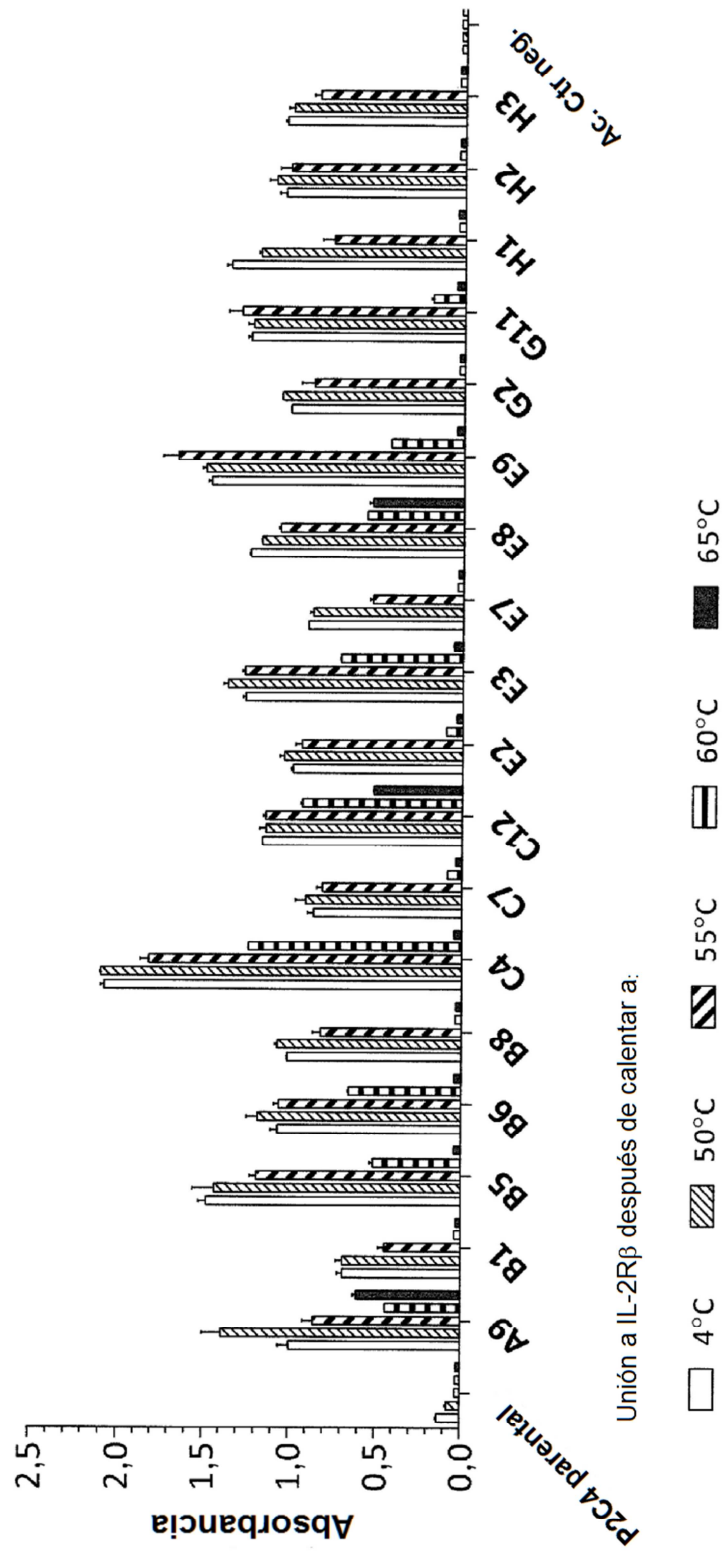


Figura 34A

Estabilidad térmica del clon P2C4 y derivados
Experimento 2/2

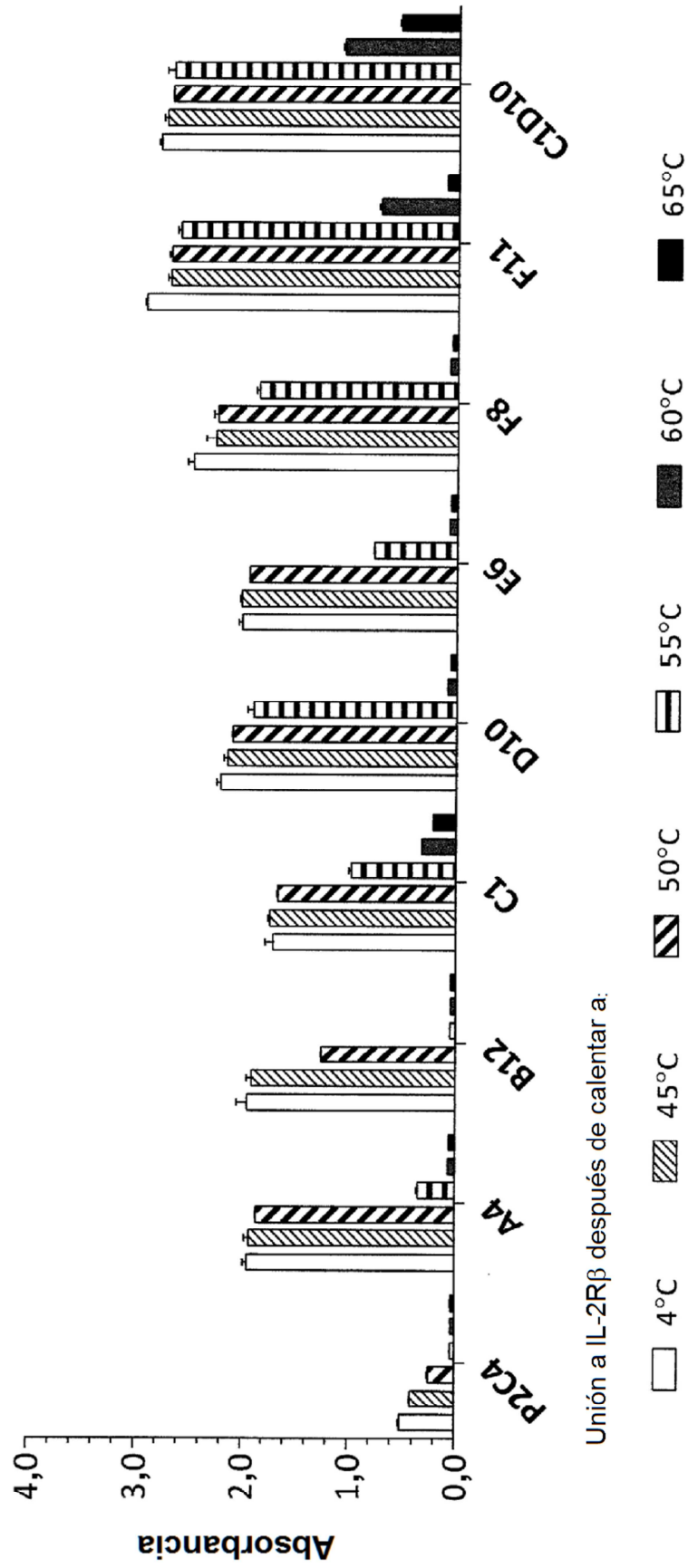


Figura 34B

Unión de P2C4_FW2 a IL-2R β

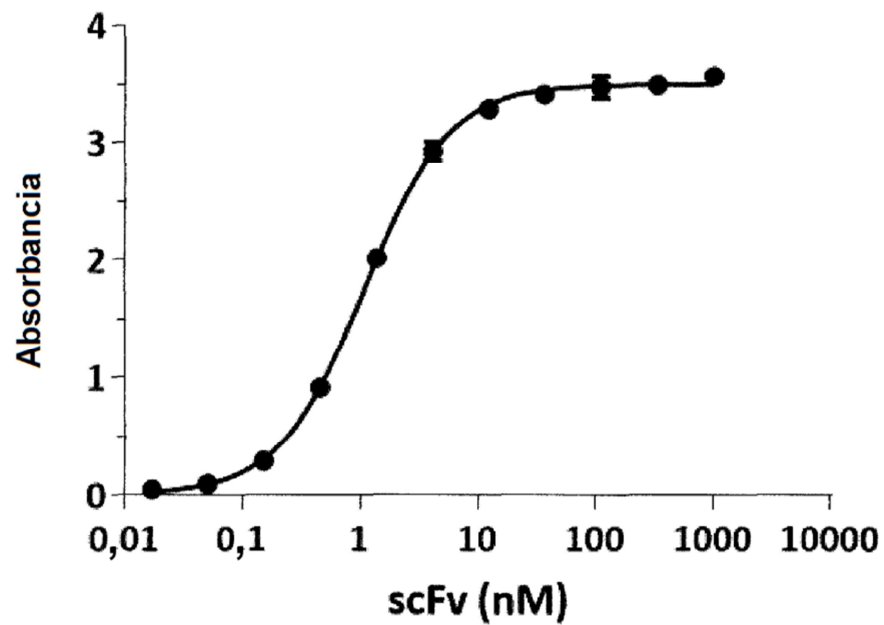


Figura 35A

Unión de P1A3_FW2 a IL-2R γ C

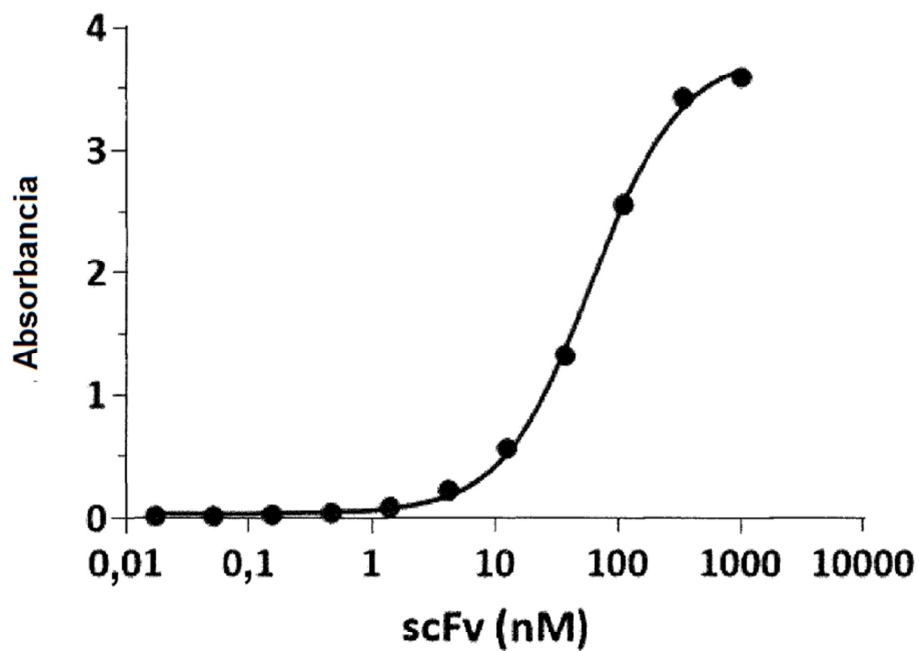


Figura 35B

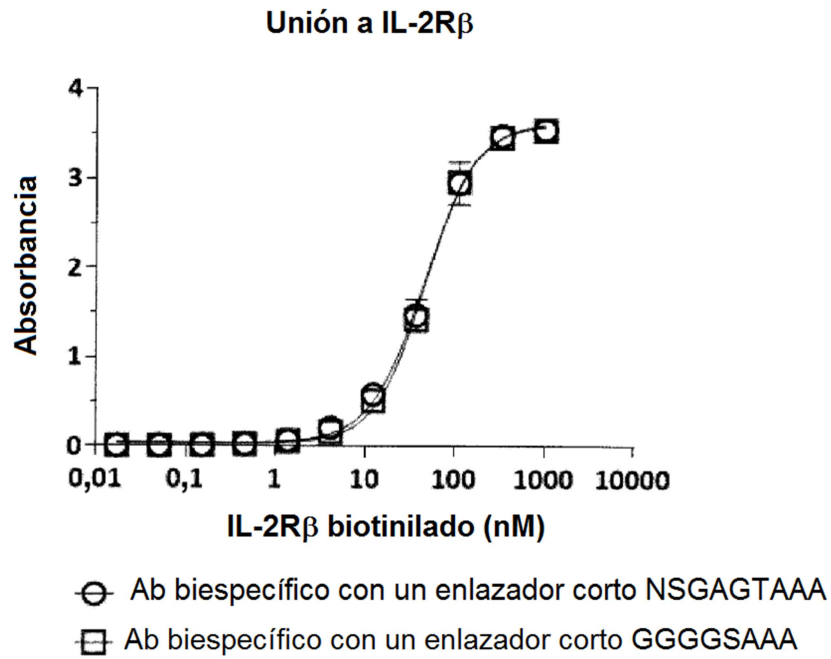


Figura 36A

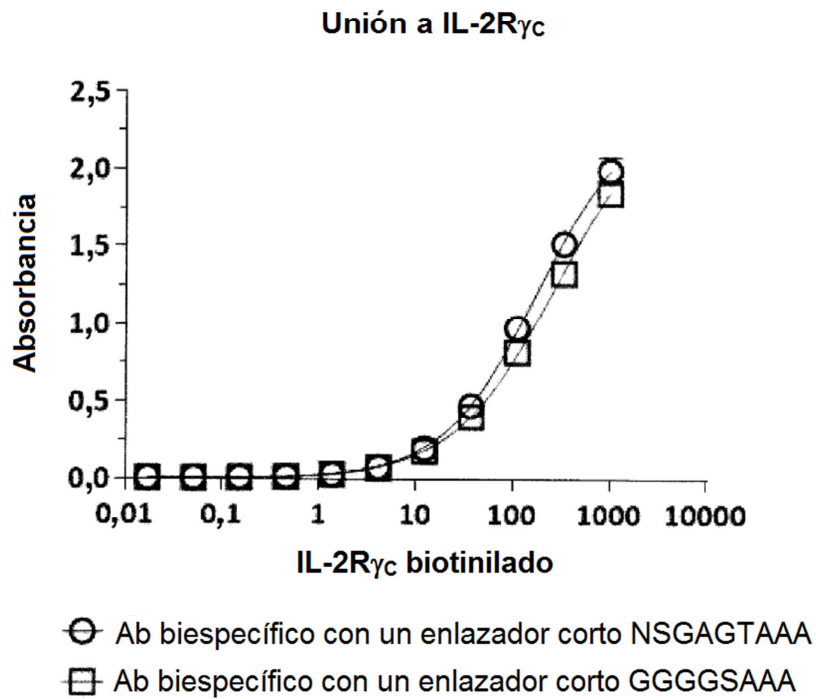
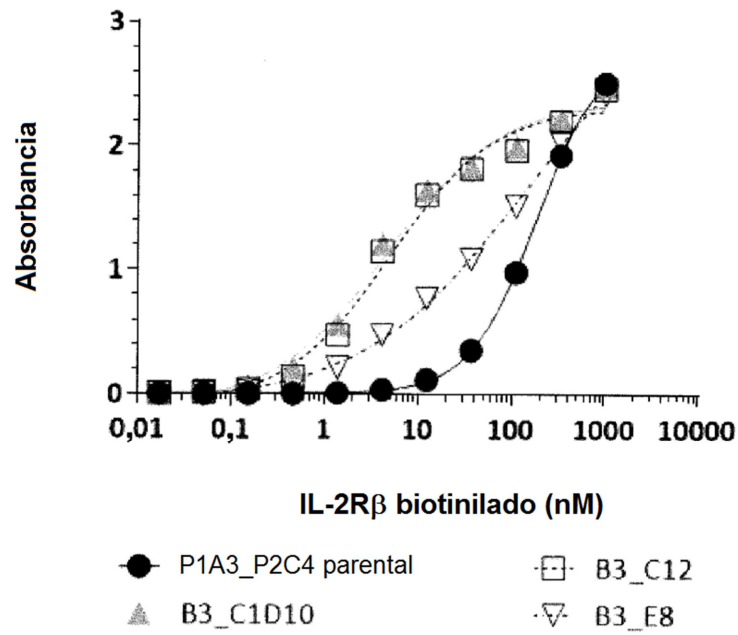
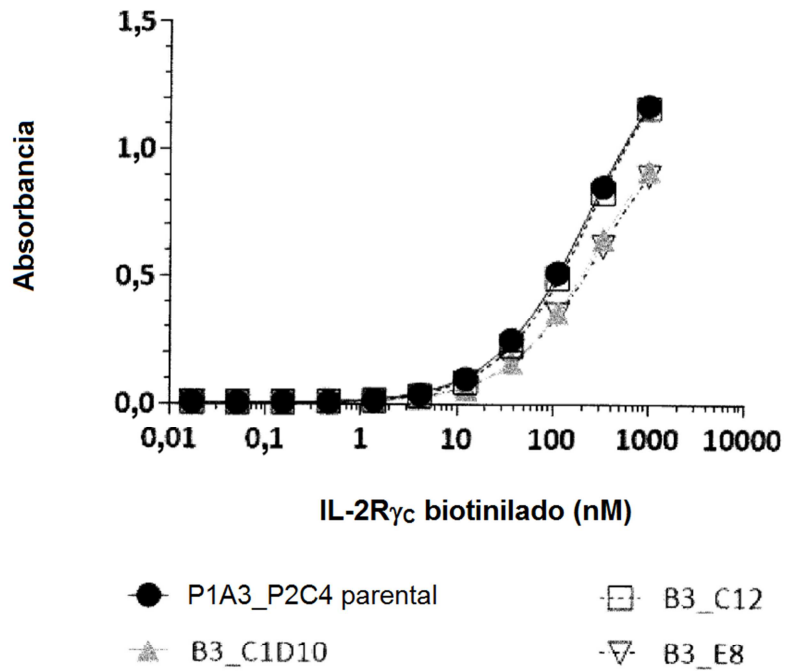


Figura 36B

Unión de construcciones biespecíficas a IL-2R β



Unión de construcciones biespecíficas a IL-2R γ



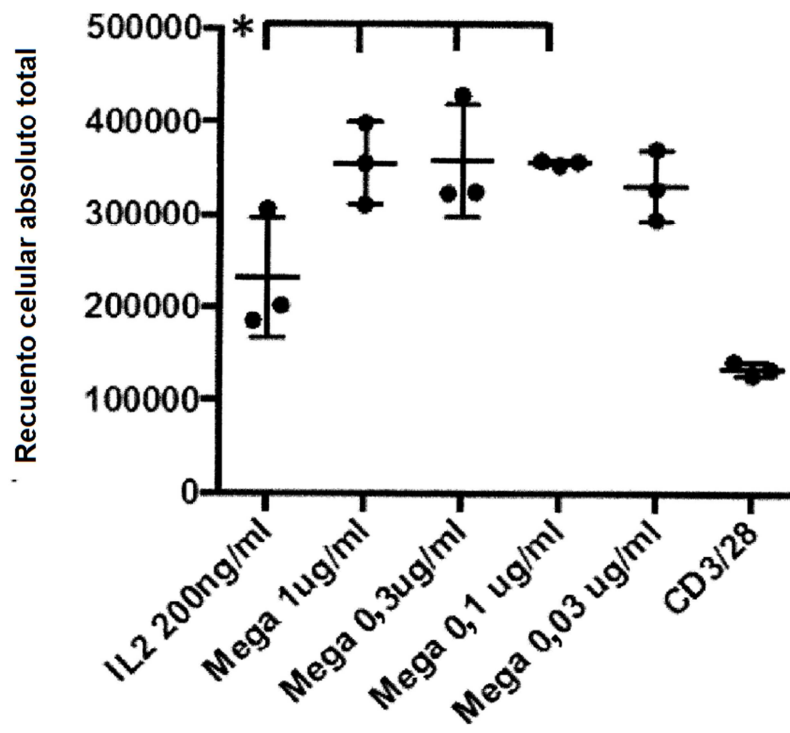


Figura 38A

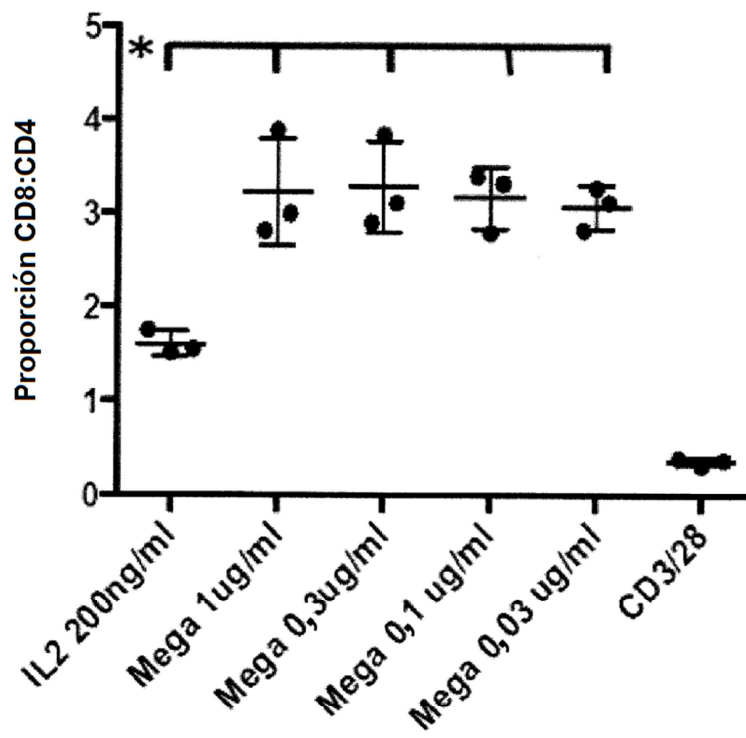


Figura 38B

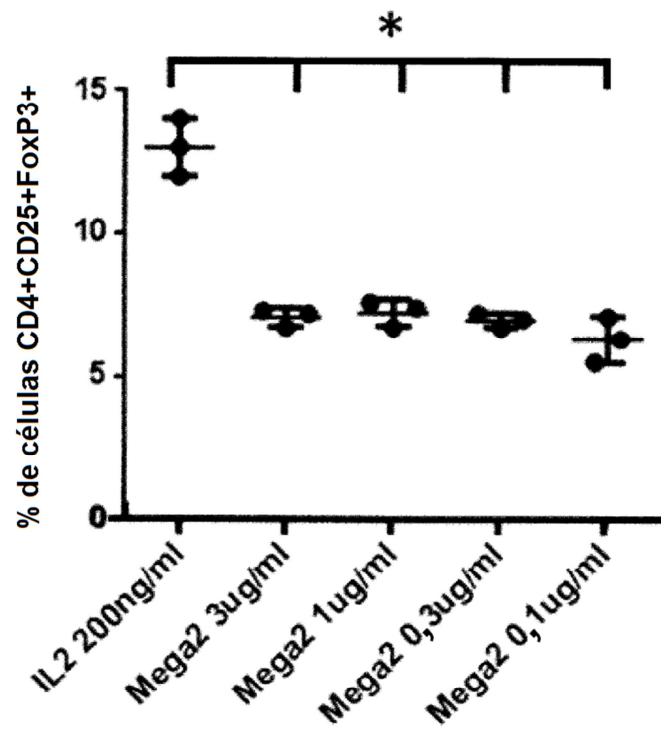


Figura 39A

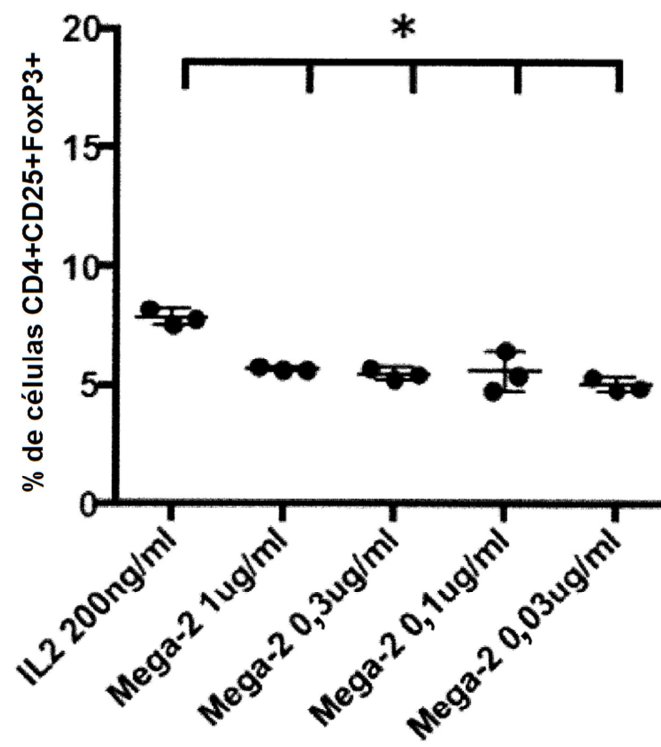
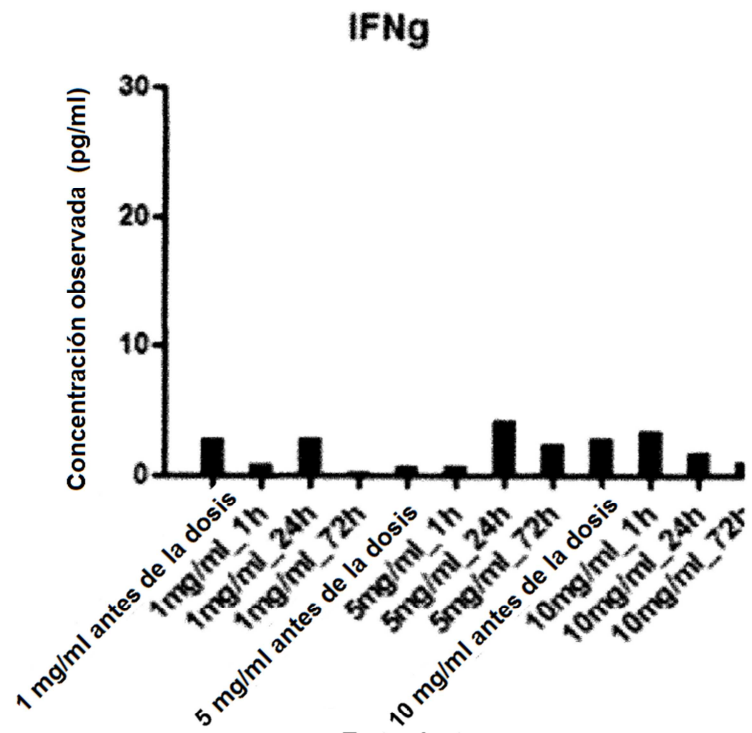
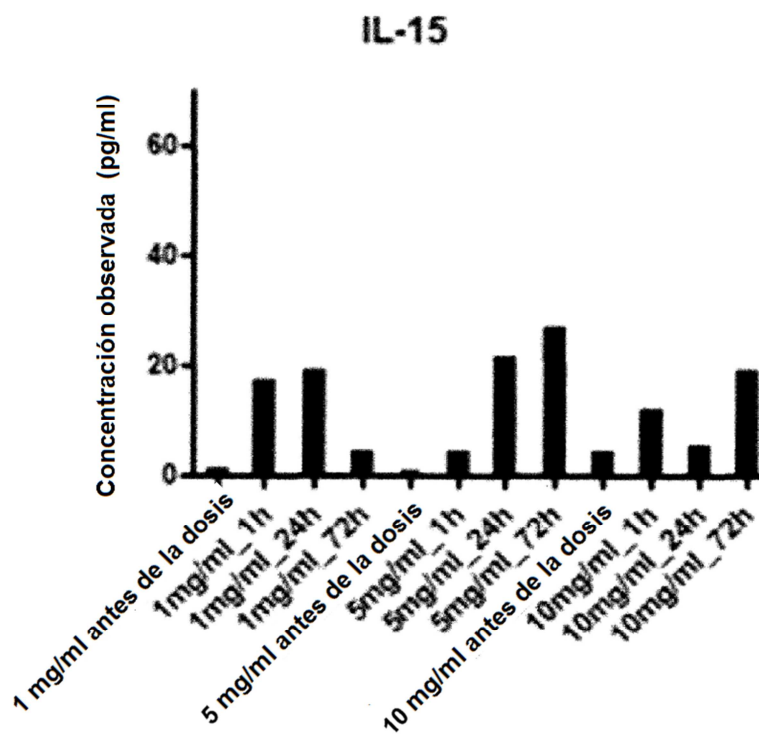


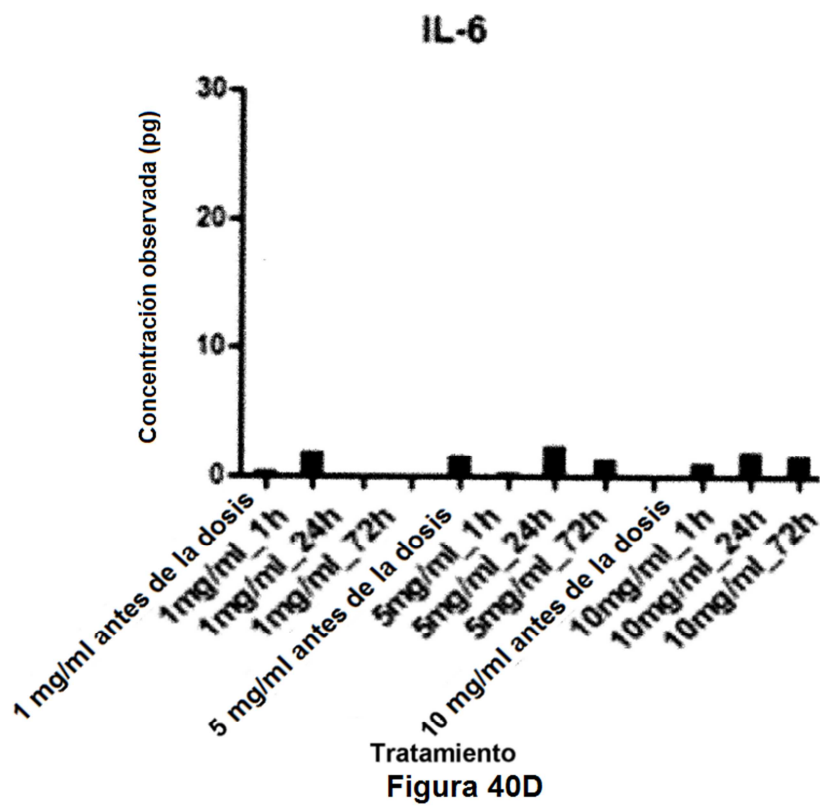
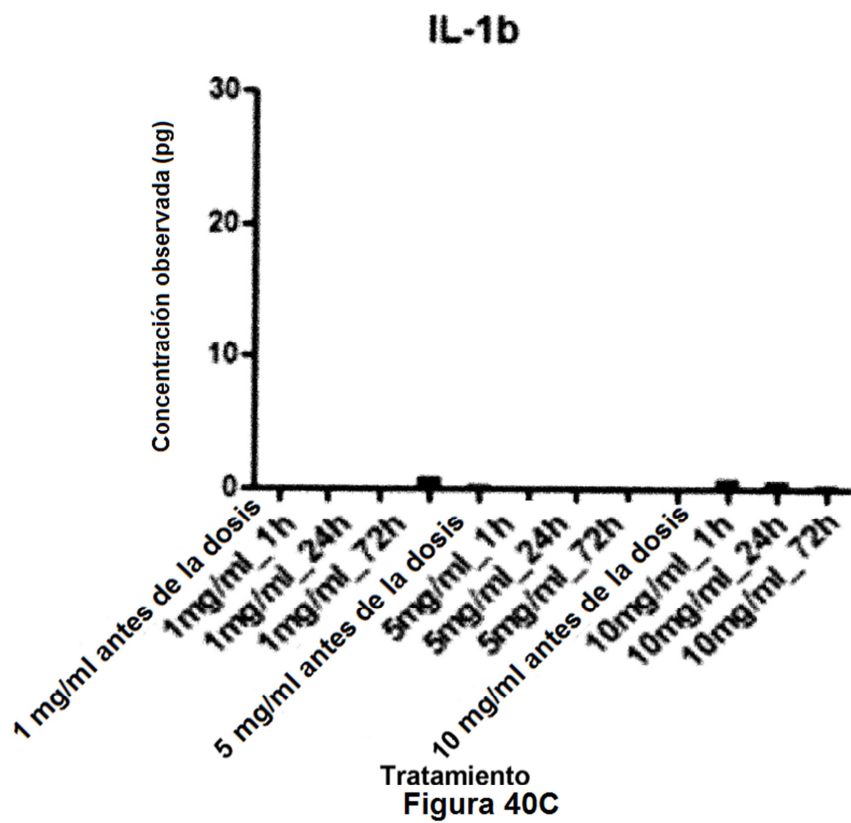
Figura 39B

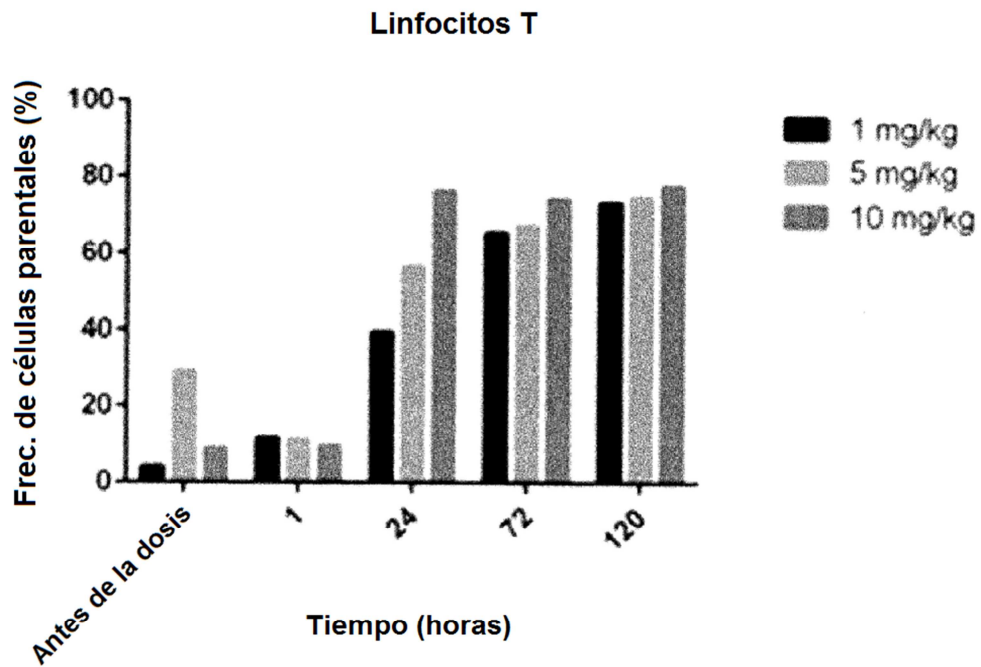
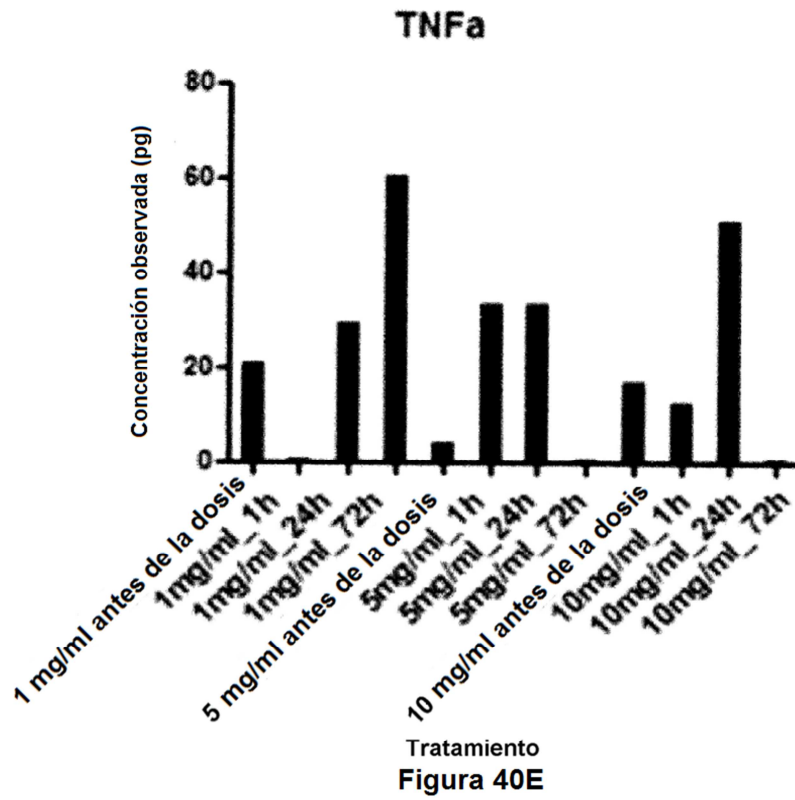


Tratamiento
Figura 40A



Tratamiento
Figura 40B





Linfocitos T CD8+ en proliferación

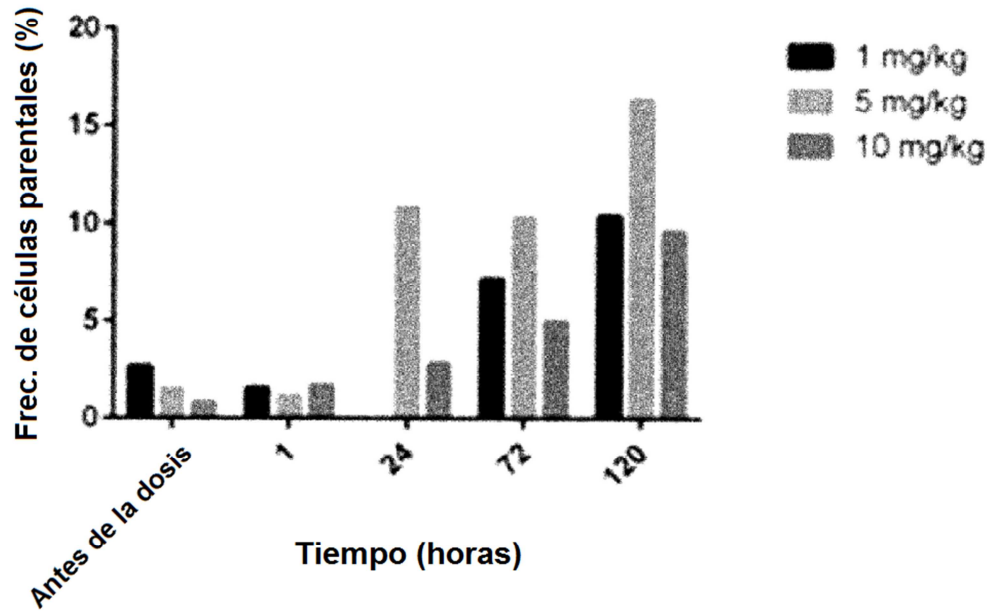


Figura 41B

Linfocitos T CD4+ en proliferación

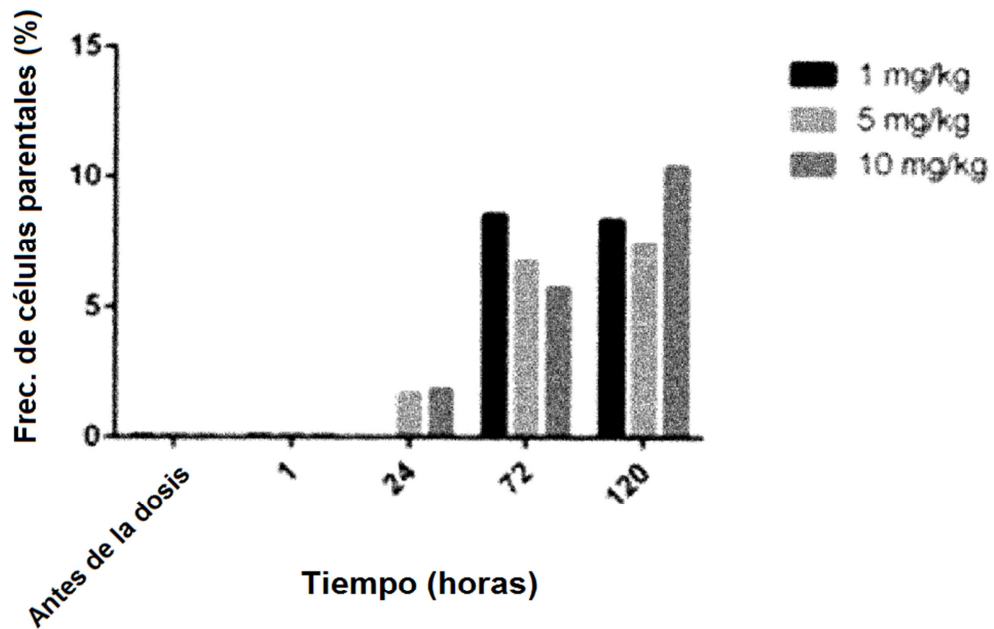


Figura 41C

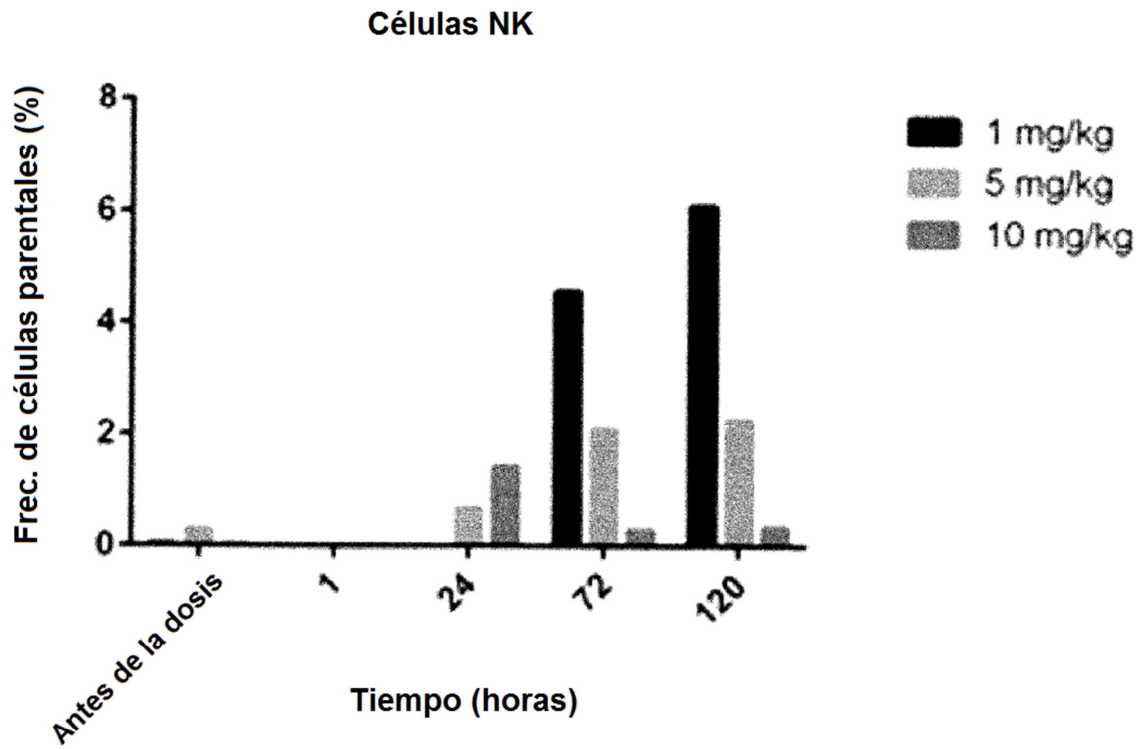


Figura 42A

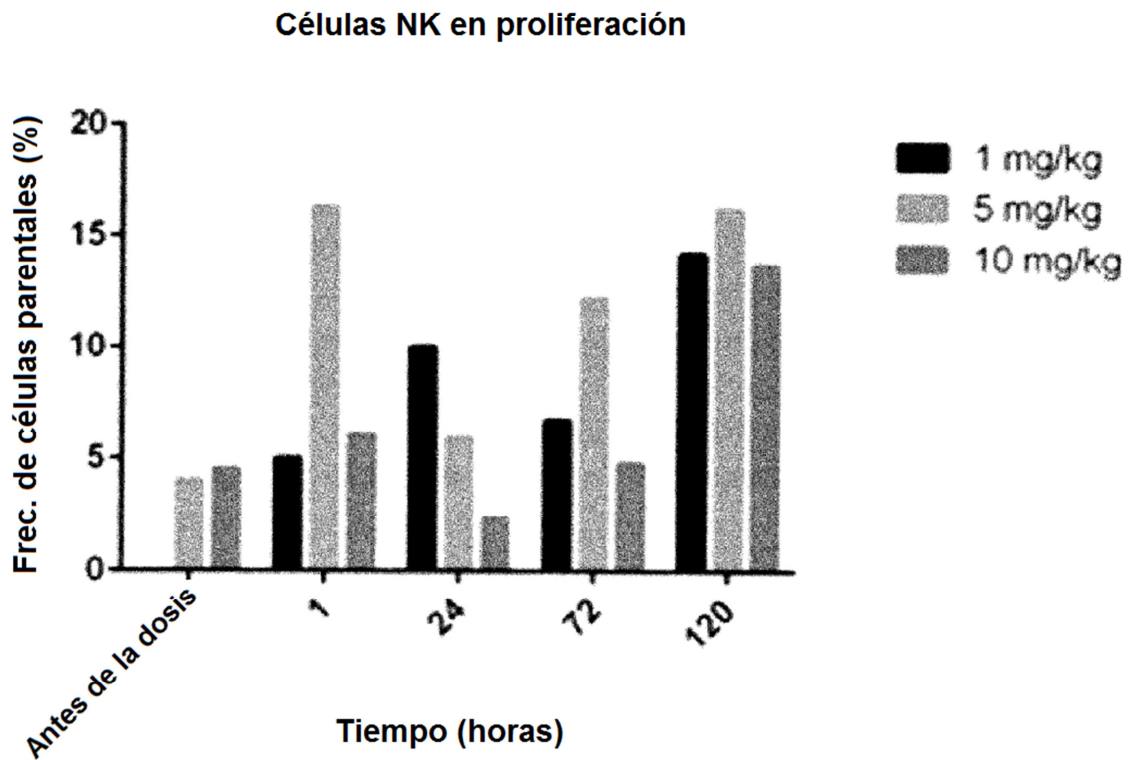


Figura 42B