



MD/EP 3328889 T2 2021.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3328889 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07K 16/28 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(21) Numărul de depozit: e 2018 0562</p> <p>(22) Data de depozit: 2016.08.01</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16756950.8, 2016.08.01</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3328889, 2018.06.06</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 201562199930 P; 201662290896 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.07.31; 2016.02.03</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US; US</p> | <p>(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 10/2021, 2021.10.31</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 25/2021, 2021.06.23</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 07/2018, 2018.07.31</p> |
| <p>(71) Solicitant: AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH, DE</p> <p>(72) Inventatori: RAUM Tobias, DE; KUFER Peter, DE; PENDZIALEK Jochen, DE; BLUEMEL Claudia, DE; DAHLHOFF Christoph, DE; HOFFMANN Patrick, DE; LUTTERBUESE Ralf, DE; NAHRWOLD Elisabeth, DE</p> <p>(73) Titular: AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH, DE</p> <p>(74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela</p>                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

(54) Constructe de anticorp bispecific de legare a DLL3 și CD3

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unui Tcell. Mai mult, invenția oferă o polinucleotidă care codifică constructul anticorpului, un vector cuprinzând polinucleotida menționată și o celulă gazdă transformată sau transfectată cu polinucleotida

2

sau vectorul menționat. Mai mult, invenția oferă un procedeu pentru producerea constructului anticorpului conform invenției, o utilizare medicală a constructului anticorp menționat și un kit care cuprinde acest construct de anticorp.

Secvențe: 554

Revendicări: 23

Figuri: 9

MD/EP 3328889 T2 2021.10.31

**(54) Bispecific antibody constructs binding dll3 and cd3****(57) Abstract:**

1

The present invention relates to a bispecific antibody construct comprising a first binding domain which binds to human DLL3 on the surface of a target cell and a second binding domain which binds to human CD3 on the surface of a Tcell. Moreover, the invention provides a polynucleotide encoding the antibody construct, a vector comprising said polynucleotide and a host cell transformed or

2

transfected with said polynucleotide or vector. Furthermore, the invention provides a process for the production of the antibody construct of the invention, a medical use of said antibody construct and a kit comprising said antibody construct.

Sequences: 554

Claims: 23

Fig.: 9

**Descriere:****(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Prezenta invenție se referă la un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T așa cum este definit în revendicări. Mai mult, invenția furnizează o polinucleotidă care codifică constructul anticorpului, un vector cuprinzând polinucleotida menționată și o celulă gazdă transformată sau transfectată cu polinucleotida sau vectorul menționat așa cum este definit în revendicări. Mai mult, invenția oferă un procedeu pentru producerea constructului de anticorp din invenție, o utilizare medicală a constructului de anticorp menționat și un kit care cuprinde constructul de anticorp menționat așa cum este definit în revendicări.

Cancerul pulmonar cu celule mici (SCLC) este o formă agresivă de cancer pulmonar cu un prognostic slab și opțiuni terapeutice limitate, reprezentând aproximativ 15% din toate cazurile de cancer pulmonar nou diagnosticat și egal cu aproximativ 25.000 de cazuri noi în US și 180.000 de cazuri noi la nivel mondial pe an. Ratele de supraviețuire au rămas scăzute timp de câteva decenii, doar 5% dintre pacienții cu SCLC supraviețuind cinci ani, în mare parte din cauza lipsei de noi terapii pentru combaterea acestei forme de cancer pulmonar. Majoritatea pacienților prezintă boală în stadiu extensiv, în timp ce aproximativ o treime dintre pacienți prezintă boală în stadiu limitat, definită de prezența tumorilor în doar o parte a pieptului și care se încadrează într-un singur camp de radiații. Aceste etape au impact asupra regimentelor terapeutice disponibile, cu boală în stadiu limitat tratată cu chimioterapie și radiații și boală în stadiu extins tratată numai cu chimioterapie. Tumorile diseminate, metastatice cu caracteristici asemănătoare limfomului sunt un semn distinctiv al SCLC. Primul diagnostic cunoscut al pacienților cu SCLC a descris-o ca pe o boală a sistemului limfatic, nefiind recunoscută de cancer pulmonar până în 1926, ceea ce evidențiază o parte din natura unică a tumorilor SCLC în comparație cu alte tumori solide.

Pacienții răspund de obicei bine la terapia curentă de primă linie, care include etopozidă și cisplatină, dar recidivează repede invariabil cu boală chimiorezistentă, pentru care nu sunt disponibile în prezent opțiuni terapeutice. Prognosticul în regimul refractar recidivant este extrem de slab, cu progresie rapidă a bolii și supraviețuire mediană scurtă de mai puțin de șase luni. Mai mult, pacienții cu SCLC au rate ridicate de comorbidități, inclusiv hipertensiune arterială, boli cardiace, diabet și sindroame paraneoplazice. Acestea, împreună cu vârsta de obicei avansată a pacienților cu SCLC, au un impact asupra capacității pacienților de a suporta regimuri chimio dure, limitând în continuare opțiunile de tratament.

O modalitate de anticorp bispecific, cuprinzând un scFv care recunoaște CD3 exprimat pe celulele T și un alt scFv care recunoaște un antigen asociat tumorii, a demonstrat o eficacitate promițătoare în clinică, cu rate ridicate de răspuns în tumorile hematologice maligne, cum ar fi B-ALL refractar (Topp, MS și colab. Blood, 2012. 120 (26): p.5185-5187), rezultând în aprobarea Blincyto. În timp ce eficacitatea terapiilor cu implicarea celulelor T nu a fost încă demonstrată într-o indicație tumorală solidă, SCLC poate reprezenta o indicație tumorală solidă promițătoare pentru modalitatea anticorpului bispecific țintă al tumorii CD3 x, dată fiind natura disemnată a bolii. Prin urmare, o angajare de celule T bispecifice care direcționează celulele T împotriva unui antigen tumoral specific prezintă o nouă oportunitate ca o nouă opțiune terapeutică în tratamentul SCLC.

DLL3 a fost identificat în prezent ca un antigen tumoral specific SCLC prin secvențierea generației următoare, comparând prevalența ARNm DLL3 într-un grup de tumori primare ale pacientului și o colecție mare de țesuturi normale. Nivelul expresiei DLL3 în tumorile SCLC a fost moderat, dar foarte răspândit, cu aproximativ 90% dintre tumorile analizate prezentând dovezi ale expresiei DLL3 prin ARN-secv. Spre deosebire de tumorile SCLC, țesuturile normale au prezentat o expresie foarte scăzută a transcriptului DLL3, cu niveluri mici detectate în testicul, nervul optic și cerebel. Compararea liniilor celulare SCLC și tumorilor prin ARN-secv a arătat niveluri de expresie similare, în timp ce cuantificarea suprafeței celulare a expresiei DLL3 pe liniile celulare SCLC a indicat niveluri de expresie sub 5000 DLL3 per celulă, cu niveluri de expresie tipice sub 2000 DLL3/celulă. Expresia proteinei DLL3 a fost confirmată de IHC, unde 86% din tumorile SCLC au prezentat colorare pozitivă pentru DLL3, cu un model de colorare omogen și membranos. În afară de colorarea foarte slabă a cerebelului, toate celelalte țesuturi normale au fost negative pentru colorarea DLL3.

DLL3 este un ligand Notch non-canonice, funcționând într-o manieră celulară autonomă pentru a inhiba semnalizarea Notch, legându-se de Notch în cis, blocând astfel interacțiunile celule la celulă și internalizarea Notch în celula țintă, un semn distinctiv al semnalizării Notch canonice.

Rolul principal pentru DLL3 este în somitogeneză în timpul dezvoltării embrionare. Șoarecii cu eliminări DLL3 prezintă defecte segmentare ale scheletului axial și ale dezvoltării craniene și neuronale. Defecte ale modelării somitice sunt, de asemenea, observate la oameni cu anumite mutații ale liniei germinale DLL3, rezultând o afecțiune numită dizostoza spondilocostală.

5 DLL3 a fost propus anterior în metode pentru diagnosticarea și tratarea gliomului, pe lângă SCLC, utilizând un conjugat anticorp-medicament (ADC) (WO 2013/126746). Utilizarea unei abordări bazate pe ADC pentru DLL3 poate avea limitări, având în vedere nivelurile scăzute de expresie ale proteinei pe suprafața celulei și performanța redusă a ADC împotriva țintelor cu expresie scăzută. Mai mult, moleculele ADC demonstrează adesea toxicitatea legată de capul exploziv liber, probabil un rezultat al degradării linkerului, rezultând limitări maxime tolerate ale dozei și impacturi potențiale asupra eficacității fără legătură cu ținta aleasă pentru anticorp. Aceasta este mai puțin probabil să fie o problemă pentru o moleculă bispecifică care se angajează cu celule DLL3 și DL3 simultan, având în vedere sensibilitatea necesară a celulelor T pentru țintele lor și s-a demonstrat citotoxicitatea in vitro foarte puternică pe liniile celulare care exprimă mai multe sute de proteine țintă per celulă. În plus, dimensiunea de obicei mai mică a unui construct de anticorpi bispecifici T care se angajează în raport cu un anticorp normal (IgG de lungime întreagă) poate îmbunătăți penetrarea țesuturilor și crește potența datorită angajării mai eficiente a țintelor DLL3 și CD3, rezultând o formare îmbunătățită a sinapselor între celula T și celula tumorii țintă.

20 SCLC rămâne o nevoie medicală semnificativă nesatisfăcută și sunt necesare noi opțiuni terapeutice pentru a îmbunătăți perspectivele pentru această populație considerabilă de pacienți. Modalitatea de anticorp bispecific discutată mai sus este validată clinic și, ca atare, un construct de anticorp care vizează DLL3 și CD3 reprezintă o nouă posibilitate promițătoare pentru tratamentul SCLC și o oportunitate de a îmbunătăți supraviețuirea pacienților care suferă de această indicație. 25 WO2014/125273 descrie reactivi de legare DLL3 pentru tratamentul și/sau diagnosticarea cancerului. În special, WO2014/125273 descrie liza celulară a celulelor care exprimă DMS79 DLL3 prin activarea celulelor T de anticorpi policlonali bispecifici anti-DLL3-anti-CD3. Deoarece este încă nevoie să avem disponibile alte opțiuni pentru tratamentul bolilor tumorale sau canceroase legate de supraexpresia DLL3, sunt furnizate aici mijloace și metode pentru soluționarea acestei probleme sub forma unui construct de anticorp bispecific cu un domeniu de legare direcționat către DLL3 și un al doilea domeniu de legare direcționat către CD3 pe celulele T.

Astfel, într-un prim aspect, prezenta invenție oferă un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR. 260 și în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR. 258 conform definițiilor din revendicări. Într-un al doilea aspect, prezenta invenție furnizează un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR. 260 și în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR. 259 conform definițiilor din revendicări.

45 Trebuie remarcat faptul că, așa cum sunt utilizate aici, formele de singular „u”, „un” și „ul” includ referințe la plural, cu excepția cazului în care contextul indică în mod clar contrariul. Astfel, de exemplu, referința la „un reactiv” include unul sau mai mulți dintre acești reactivi diferiți, și referința la „metodă” include referința la etape echivalente și metode cunoscute celor cu calificare obișnuită în domeniu care ar putea fi modificate sau substituite pentru metodele descrise aici.

50 Cu excepția cazului în care se indică altfel, termenul „cel puțin” care precede o serie de elemente trebuie înțeles că se referă la fiecare element din serie. Cei cu calificare în domeniu vor recunoaște sau vor putea constata folosind nu mai mult decât experimentarea de rutină, multe echivalențe la exemplele de realizare specifice ale invenției descrise aici. Astfel de echivalențe sunt intenționate să fie cuprinse de prezenta invenție.

Termenul „și/sau” oriunde este utilizat aici include sensul de „și”, „sau” și „toate sau orice altă combinație a elementelor legate de termenul menționat”.

60 Termenul „aproximativ” sau „aproximativ” așa cum este utilizat aici înseamnă în intervalul  $\pm 20\%$ , preferabil în intervalul  $\pm 15\%$ , mai preferabil în intervalul  $\pm 10\%$  și cel mai preferabil în intervalul  $\pm 5\%$  dintr-o anumită valoare sau interval.

De-a lungul acestei descrieri și a revendicărilor care urmează, cu excepția cazului în care contextul impune altfel, cuvântul „cuprinde” și variații precum „cuprinzând”, vor fi înțelese ca implicând includerea unui număr întreg sau a unei etape sau a unui grup de numere întregi sau pași, dar nu excluderea oricărui alt număr întreg sau pas sau grup de număr întreg sau pas. Când este utilizat aici, termenul "cuprinzand" poate fi substituit cu termenul "conținând" sau "incluzând" sau uneori cand este utilizat aici cu termenul "avand".

Atunci cand este utilizat aici, „constând din” exclude orice element, etapă sau ingredient nespecificat în elementul revendicării. Atunci când este utilizat aici, „constând în esență din” nu exclude materialele sau etapele care nu afectează material caracteristicile de bază și noi ale revendicării.

În fiecare caz de aici, oricare dintre termenii "cuprinzand", "constand in esență din" și "constand din" poate fi înlocuit cu oricare dintre ceilalți doi termeni.

Termenul "construct de anticorp" se referă la o moleculă în care structura și/sau funcția se bazează pe structura și/sau funcția unui anticorp, de ex., a unei molecule de imunoglobulină de lungime completă sau întreagă. Un construct de anticorp este, prin urmare, capabil să se lege de ținta sau antigenul său specific. Mai mult, un construct de anticorp conform invenției cuprinde cerințele structurale minime ale unui anticorp care permit legarea țintei. Această cerință minimă este definită de prezența a cel puțin celor trei CDR-uri de lanț ușor (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VL) și a celor trei CDR-uri de lanț greu (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VH), adică a tuturor șase CDR-uri. Anticorpii pe care se bazează constructele conform invenției includ, de exemplu, anticorpi monoclonali, recombinati, himerici, dezimunizați, umanizați și umani.

În definiția „constructelor de anticorpi” conform invenției sunt anticorpi cu lungime completă sau întregi, incluzând, de asemenea, anticorpi de camelide și alți anticorpi imunoglobulinici generați prin metode sau procedee de inginerie biotehnologică sau proteică. Acești anticorpi de lungime completă pot fi, de exemplu, anticorpi monoclonali, recombinati, himerici, dezimunizați, umanizați și umani. De asemenea, în definiția „constructe de anticorpi” se află fragmente de anticorpi de lungime completă, cum ar fi VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> sau „r IgG” („jumătate de anticorp”). Constructele de anticorp conform invenției pot fi, de asemenea, fragmente modificate de anticorpi, numite și variante de anticorpi, cum ar fi scFv, di-scFv sau bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-fermoar, scFab, Fab2, Fab3, diacorpi, diacorpi cu lanț unic, diacorpi tandem (Tandab), di-scFv tandem, tri-scFv tandem, „minicorpi” exemplificați printr-o structură care este după cum urmează: (VH-VL-CH3)<sub>2</sub>, (scFv-CH3)<sub>2</sub>, ((scFv)<sub>2</sub>-CH3 + CH3), ((scFv)<sub>2</sub>-CH3) sau (scFv-CH3-scFv)<sub>2</sub>, multicorpi cum ar fi triacorpi sau tetracorpi și anticorpi cu un singur domeniu cum ar fi nanocorpi sau anticorpi cu un singur domeniu variabil cuprinzand doar un domeniu variabil, care ar putea fi VHH, VH sau VL, care leagă specific un antigen sau epitop independent de alte regiuni V sau domenii. Alte formate preferate ale constructelor anticorpului conform invenției sunt corpii încrucișați, maxi corpii, constructele hetero Fc și constructele mono Fc. Exemple pentru aceste formate vor fi descrise aici mai jos.

Un domeniu de legare poate cuprinde în mod tipic o regiune variabilă a lanțului ușor al anticorpului (VL) și o regiune variabilă a lanțului greu al anticorpului (VH); cu toate acestea, nu trebuie să cuprindă ambele. Fragmentele Fd, de exemplu, au două regiuni VH și adesea păstrează o anumită funcție de legare la antigen a domeniului intact de legare la antigen. Exemple suplimentare pentru formatul de fragmente de anticorpi, variante de anticorpi sau domenii de legare includ (1) un fragment Fab, un fragment monovalent având domeniile VL, VH, CL și CH1; (2) un fragment F(ab')<sub>2</sub>, un fragment bivalent având două fragmente Fab legate printr-o punte disulfură la regiunea balamalei; (3) un fragment Fd având cele două domenii VH și CH1; (4) un fragment Fv având domeniile VL și VH ale unui singur braț al unui anticorp, (5) un fragment dAb (Ward și colab., (1989) Nature 341: 544-546), care are un domeniu VH; (6) o regiune izolată de determinare a complementarității (CDR) și (7) un singur lanț Fv (scFv), acesta din urmă fiind preferat (de exemplu, derivat dintr-o bibliotecă scFv). Exemple de realizări ale constructelor de anticorpi conform invenției sunt de ex. descrise în WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO2014/144722, WO 2014/151910, și WO 2015/048272.

Mai mult, definiția termenului „construct de anticorp” include constructe monovalente, bivalente și polivalente/multivalente și, prin urmare, constructe monospecifice, care se leagă specific de o singură structură antigenică, precum și constructe bispecifice și polispecifice/multispecifice, care leagă specific mai mult decât o structură antigenică, de ex două, trei sau mai multe, prin domenii de legare distincte. Mai mult, definiția termenului „construct de anticorp” include molecule care constau dintr-un singur lanț polipeptidic, precum și molecule constand din mai multe lanțuri polipeptidice, care lanțuri pot fi identice (homodimeri, homotrimeri

sau homo oligomeri) sau diferite (heterodimeri, heterotrimeri sau heterooligomeri). Exemple de anticorpi identificați mai sus și variante sau derivați ai acestora sunt descrise, *inter alia*, în Harlow and Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) and *Using Antibodies: a laboratory manual*, CSHL Press (1999), Kontermann and Dubel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010 and Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

Construcțiile de anticorp conform prezentei invenții sunt, de preferință, „construcție de anticorp generate *in vitro*”. Acest termen se referă la un construct de anticorp conform definiției de mai sus, în care toată sau o parte a regiunii variabile (de ex., cel puțin un CDR) este generată într-o selecție de celule neimune, *de ex.*, un afișaj de fagi *in vitro*, cip proteic sau orice altă metodă în care secvențele candidate pot fi testate pentru capacitatea lor de a se lega de un antigen. Astfel, acest termen exclude, de preferință, secvențele generate exclusiv de rearanjarea genomică într-o celulă imună la un animal. Un „anticorp recombinant” este un anticorp produs prin utilizarea tehnologiei de ADN recombinant sau a ingineriei genetice.

Termenul „anticorp monoclonal” (mAb) sau construct de anticorp monoclonal așa cum este utilizat aici se referă la un anticorp obținut dintr-o populație de anticorpi substanțial omogeni, *adică*, anticorpii individuali care cuprind populația sunt identici, cu excepția posibilelor mutații care apar în mod natural și/sau post- modificări ale translației (de ex., izomerizări, amidări) care pot fi prezente în cantități minore. Anticorpii monoclonali sunt foarte specifici, fiind direcționați împotriva unui singur situs antigenic sau determinant asupra antigenului, spre deosebire de preparatele convenționale (policlonale) de anticorpi care includ de obicei diferiți anticorpi direcționați împotriva diferiților determinanți (sau epitopi). În plus față de specificul lor, anticorpii monoclonali sunt avantajoși prin faptul că sunt sintetizați prin cultura hibridomului, deci necontaminat de alte imunoglobuline. Modificatorul „monoclonal” indică caracterul anticorpului ca fiind obținut dintr-o populație substanțial omogenă de anticorpi și nu trebuie interpretat ca necesitând producerea anticorpului prin nici o metodă particulară.

Pentru prepararea anticorpilor monoclonali, poate fi utilizată orice tehnică care furnizează anticorpi produși de culturi de linie celulară continuă. De exemplu, anticorpii monoclonali care trebuie utilizați pot fi produși prin metoda hibridoma descrisă mai întâi de Koehler și colab., *Nature*, 256: 495 (1975), sau poate fi realizat prin metode de ADN recombinant (vezi, de ex., brevetul US nr. 4.816.567). Exemple de alte tehnici de producere a anticorpilor monoclonali umani includ tehnica triomului, tehnica hibridomului cu celule B umane (Kozbor, *Immunology Today* 4 (1983), 72) și tehnica EBV-hibridoma (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

Hibridomele pot fi apoi testate folosind metode standard, cum ar fi testul imunosorbent legat de enzime (ELISA) și analiza rezonanței plasmonului de suprafață (BIACORE™), pentru a identifica unul sau mai mulți hibridomi care produc un anticorp care se leagă specific cu un antigen specificat. Orice formă a antigenului relevant poate fi utilizată ca imunogen, de ex., antigen recombinant, forme naturale, orice variante sau fragmente ale acestuia, precum și o peptidă antigenică a acestuia. Rezonanța plasmonului de suprafață, utilizată în sistemul BIAcore, poate fi utilizată pentru a crește eficiența anticorpilor fagi care se leagă de un epitop al unui antigen țintă, cum ar fi DLL3 sau CD3 epsilon (Schier, *Human Antibodies Hybridomas* 7 (1996), 97-105; Malmborg, *J. Immunol. Metode* 183 (1995), 7-13).

O altă metodă exemplificativă de fabricare a anticorpilor monoclonali include screening-ul bibliotecilor de expresie a proteinelor, de ex., bibliotecile de afișarea fagilor sau afișare a ribozomilor. Afișarea de fagi este descrisă, de exemplu, în Ladner și colab., brevet U.S. Nr. 5,223,409; Smith (1985) *Science* 228:1315-1317, Clackson și colab., *Nature*, 352: 624-628 (1991) și Marks și colab., *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1991).

În plus față de utilizarea bibliotecilor de afișare, antigenul relevant poate fi utilizat pentru imunizarea unui animal neuman, de ex., un rozător (cum ar fi un șoarece, hamster, iepure sau șobolan). Într-o variantă de realizare, animalul non-uman include cel puțin o parte a unei gene a imunoglobulinei umane. De exemplu, este posibil să se proiecteze tulpini de șoarece deficiente în producția de anticorpi de șoarece cu fragmente mari de locusuri de Ig (imunoglobulină) umană. Folosind tehnologia hibridomului, pot fi produși și selectați anticorpi monoclonali specifici antigenului derivați din gene cu specificitatea dorită. Vezi, de ex., XENOMOUSE™, Green și colab. (1994) *Nature Genetics* 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096, și WO 96/33735.

Un anticorp monoclonal poate fi, de asemenea, obținut de la un animal neuman și apoi modificat, de ex., umanizat, dezimunizat, făcut himeric etc., utilizând tehnici de ADN recombinant cunoscute în domeniu. Exemplele de construcție de anticorpi modificate includ variante umanizate de anticorpi neumani, anticorpi „cu afinitate maturată” (vezi, de ex., Hawkins și colab. *J. Mol. Biol.* 254, 889-896 (1992) și Lowman și colab., *Biochemistry* 30, 10832- 10837 (1991)) și mutanți

de anticorpi cu funcții efectoare modificate (vezi, *de ex.*, brevetul US 5.648.260, Kontermann și Dubel (2010), *loc. cit.* și Little (2009), *loc. cit.*).

În imunologie, maturarea afinității este procesul prin care celulele B produc anticorpi cu afinitate crescută pentru antigen în cursul unui răspuns imun. Cu expuneri repetate la același antigen, o gazdă va produce anticorpi cu afinități succesiv mai mari. La fel ca prototipul natural, maturizarea afinității *in vitro* se bazează pe principiile mutației și selecției. Maturarea afinității *in vitro* a fost utilizată cu succes pentru a optimiza anticorpii, structurile de anticorpi și fragmentele de anticorpi. Mutațiile aleatorii din interiorul CDR-urilor sunt introduse folosind radiații, mutageni chimici sau PCR predispuși la erori. În plus, diversitatea genetică poate fi mărită prin amestecarea lanțului. Două sau trei runde de mutație și selecție folosind metode de afișare, cum ar fi afișarea fagilor, duc de obicei la fragmente de anticorpi cu afinități în domeniul nanomolar scăzut.

Un tip preferat de variație substituțională a aminoacizilor constructelor de anticorpi implică substituirea unuia sau mai multor reziduuri de regiune hipervariabilă ale unui anticorp părinte (de ex., un anticorp umanizat sau uman). În general, variantele rezultate selectate pentru dezvoltarea ulterioară vor avea proprietăți biologice îmbunătățite în raport cu anticorpul părinte din care sunt generați. O modalitate convenabilă de a genera astfel de variante de substituție implică maturarea afinității folosind afișarea fagilor. Pe scurt, mai multe situsuri ale regiunii hipervariabile (de ex., 6-7 situsuri) sunt mutate pentru a genera toate substituțiile posibile de aminoacizi la fiecare situs. Variantele de anticorpi astfel generate sunt afișate într-un mod monovalent din particule de fagi filamentoase ca fuziuni cu produsul genei III din M13 ambalat în fiecare particulă. Variantele afișate pe fagi sunt apoi selectate pentru activitatea lor biologică (de ex., afinitate de legare) așa cum este dezvăluit aici. Pentru a identifica situsurile regiunii hipervariabile candidate pentru modificare, se poate efectua mutageneză de scanare a alaninei pentru a identifica reziduurile regiunii hipervariabile contribuind semnificativ la legarea antigenului. Alternativ sau suplimentar, poate fi benefic să se analizeze o structură cristalină a complexului antigen-anticorp pentru a identifica punctele de contact dintre domeniul de legare și, de exemplu, DLL3 uman. Astfel de reziduuri de contact și reziduuri învecinate sunt candidați la substituție în conformitate cu tehnicile elaborate aici. Odată ce astfel de variante sunt generate, panoul de variante este supus screeningului așa cum este descris aici și anticorpii cu proprietăți superioare într-una sau mai multe teste relevante pot fi selectați pentru dezvoltare ulterioară.

Anticorpii monoclonali și structurile de anticorpi conform prezentei invenții includ în mod specific anticorpi "himerici" (imunoglobuline) în care o porțiune a lanțului greu și/sau ușor este identică sau omologă cu secvențele corespunzătoare din anticorpi derivați dintr-o anumită specie sau aparținând unei anumite clase sau subclase de anticorpi, în timp ce restul lanțului (lanțurilor) este/sunt identice sau omoloage cu secvențele corespunzătoare din anticorpii derivați de la o altă specie sau aparținând altei clase de anticorpi sau subclase, precum și fragmente ale acestor anticorpi, atât de mult cât prezintă activitatea biologică dorită (brevetul US nr. 4.816.567; Morrison și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. SUA, 81: 6851-6855 (1984)). Anticorpii himerici de interes din prezenta includ anticorpi „primitivi” care cuprind secvențe de legare a antigenului domeniului variabil derivat de la un primat neuman (de ex., Old World Monkey, Ape etc.) și secvențe de regiune constantă umană. Au fost descrise o varietate de abordări pentru producerea anticorpilor himerici. Vezi *de ex.*, Morrison și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A. 81:6851, 1985; Takeda și colab., Nature 314:452, 1985, Cabilly și colab., brevet U.S. Nr. 4.816.567; Boss și colab., brevet U.S. Nr. 4.816.397; Tanaguchi și colab., EP 0171496; EP 0173494; și GB 2177096.

Un anticorp, un construct de anticorp, un fragment de anticorp sau o variantă de anticorp pot fi, de asemenea, modificate prin ștergerea specifică a epitopilor de celule T umane (o metodă numită "dezimunizare") prin metodele dezvăluite, de exemplu, în WO 98/52976 sau WO 00/34317. Pe scurt, domeniile variabile ale lanțului greu și ușor ale unui anticorp pot fi analizate pentru peptide care se leagă de MHC clasa II; aceste peptide reprezintă potențiali epitopi ai celulelor T (așa cum sunt definiți în WO 98/52976 și WO 00/34317). Pentru detectarea potențialilor epitopi de celule T, se poate aplica o abordare de modelare computerizată denumită „filetare peptidică” și, în plus, o bază de date cu peptide de legare MHC clasa II umană poate fi căutată pentru motive prezente în secvențele VH și VL, așa cum este descris în WO 98/52976 și WO 00/34317. Aceste motive se leagă de oricare dintre cele 18 alotipuri majore MHC clasa II DR și astfel constituie epitopi potențiali ai celulelor T. Epitopii potențiali de celule T detectați pot fi eliminați prin substituirea unui număr mic de reziduuri de aminoacizi în domeniile variabile sau, de preferință, prin substituții de aminoacizi unici. De obicei, se fac substituții conservatoare. Adesea, dar nu exclusiv, poate fi utilizat un aminoacid comun unei poziții în secvențele de anticorpi ai liniei germinale umane. Se dezvăluie secvențe ale liniei germinale umane *de ex.* în Tomlinson și colab. (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798; Cook, G.P. și colab. (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; și Tomlinson și colab. (1995) EMBO J. 14: 14: 4628-4638. Directorul

V BASE oferă un director cuprinzător de secvențe de regiuni variabile ale imunoglobulinei umane (compilat de Tomlinson, LA. *și colab.* MRC Center for Protein Engineering, Cambridge, Marea Britanie). Aceste secvențe pot fi utilizate ca sursă de secvență umană, de ex., pentru regiunile cadru și CDR-uri. Pot fi de asemenea utilizate regiuni cadru umane de consens, de exemplu așa cum este descris în brevetul US nr. 6.300.064.

Anticorpul „umanizat”, structurile de anticorpi, variantele sau fragmentele acestora (cum ar fi Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> sau alte subsecvențe de anticorpi de legare la antigen) sunt anticorpi sau imunoglobuline cu secvențe majoritar umane, care conțin (o) secvență(e) minimă(e) derivată(e) din imunoglobulină neumană. În cea mai mare parte, anticorpii umanizați sunt imunoglobuline umane (anticorp receptor) în care reziduurile dintr-o regiune hipervariabilă (de asemenea, CDR) a receptorului sunt înlocuite cu reziduuri dintr-o regiune hipervariabilă a unei specii neumane (de ex., rozătoare) (anticorp donator) cum ar fi șoarecele, șobolanul, hamsterul sau iepurele având specificitatea, afinitatea și capacitatea dorite. În unele cazuri, reziduurile regiunii cadru Fv (FR) ale imunoglobulinei umane sunt înlocuite cu reziduuri neumane corespunzătoare. Mai mult, „anticorpii umanizați”, așa cum se utilizează aici, pot cuprinde, de asemenea, reziduuri care nu se găsesc nici în anticorpul receptor, nici în anticorpul donator. Aceste modificări sunt făcute pentru a rafina și optimiza în continuare performanța anticorpilor. Anticorpul umanizat poate cuprinde, de asemenea, cel puțin o porțiune dintr-o regiune constantă a imunoglobulinei (Fc), în mod tipic aceea a unei imunoglobuline umane. Pentru mai multe detalii, a se vedea Jones *și colab.*, Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann *și colab.*, Nature, 332: 323-329 (1988); *și* Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992).

Anticorpii umanizați sau fragmente ale acestora pot fi generați prin înlocuirea secvențelor domeniului variabil Fv care nu sunt direct implicate în legarea antigenului cu secvențe echivalente din domeniile variabile Fv umane. Metode exemplare pentru generarea de anticorpi umanizați sau fragmente ale acestora sunt furnizate de Morrison (1985) Science 229: 1202-1207; de Oi *și colab.* (1986) BioTechniques 4: 214; *și* cu US 5.585.089; US 5.693.761; US 5.693.762; US 5.859.205; *și* US 6.407.213. Aceste metode includ izolarea, manipularea și exprimarea secvențelor de acid nucleic care codifică toate sau o parte din domeniile variabile ale imunoglobulinei Fv din cel puțin unul dintr-un lanț greu sau ușor. Astfel de acizi nucleici pot fi obținuți dintr-un hibridom care produce un anticorp împotriva unei ținte predeterminate, așa cum este descris mai sus, precum *și* din alte surse. ADN-ul recombinant care codifică molecula de anticorp umanizat poate fi apoi clonat într-un vector de expresie adecvat.

Anticorpii umanizați pot fi, de asemenea, produși folosind animale transgenice, cum ar fi șoareci care exprimă gene ale lanțului greu *și* ușor uman, dar sunt incapabili să exprime genele lanțului greu *și* ușor ale imunoglobulinei endogene de șoarece. Winter descrie o metodă exemplară de grefarea CDR care poate fi utilizată pentru a prepara anticorpii umanizați descriși aici (brevetul US nr.5.225.539). Toate CDR-urile unui anumit anticorp uman pot fi înlocuite cu cel puțin o porțiune dintr-un CDR non-uman sau doar unele dintre CDR-uri pot fi înlocuite cu CDR-uri neumane. Este necesar doar să se înlocuiască numărul de CDR necesare pentru legarea anticorpului umanizat la un antigen predeterminat.

Un anticorp umanizat poate fi optimizat prin introducerea de substituții conservatoare, substituții de secvență consens, substituții ale liniei germinale *și/sau* mutații din spate. Astfel de molecule de imunoglobulină modificate pot fi realizate prin oricare dintre mai multe tehnici cunoscute în domeniu, (de ex., Teng *și colab.*, Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor *și colab.*, Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson *și colab.*, Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, *și* EP 239 400).

Termenul „anticorp uman”, „construct de anticorp uman” *și* „domeniu de legare umană” include anticorpi, structuri de anticorpi *și* domenii de legare având regiuni de anticorpi cum ar fi regiuni variabile *și* constante sau domenii care corespund în mod substanțial secvențelor de imunoglobulină a liniei germinale umane cunoscute în domeniu, inclusiv, de exemplu, cele descrise de Kabat *și colab.* (1991) (*loc. cit.*). Anticorpii umani, structurile de anticorpi sau domeniile de legare ale invenției pot include reziduuri de aminoacizi necodificate de secvențe de imunoglobulină ale liniei germinale umane (*de ex.*, mutații introduse prin mutagenză aleatorie sau situs-specific *in vitro* sau prin mutație somatică *in vivo*), de exemplu în CDR-uri *și*, în special, în CDR3. Anticorpii umani, structurile de anticorpi sau domeniile de legare pot avea cel puțin una, două, trei, patru, cinci sau mai multe poziții înlocuite cu un reziduu de aminoacizi care nu este codificat de secvența de imunoglobulină a liniei germinale umane. Definiția anticorpilor umani, a constructelor de anticorpi *și* a domeniilor de legare, așa cum este utilizată aici, are în vedere *și* anticorpii complet umani, care includ doar secvențe umane de anticorpi modificate non-artificial *și/sau* genetic, deoarece aceștia pot fi derivați folosind tehnologii sau sisteme, cum ar fi Xenomouse.

In unele variante de realizare, constructele anticorpului conform invenției sunt construct de anticorpi "izolate" sau "substanțial pure". "Izolată" sau "substanțial pur", atunci când este utilizat pentru a descrie constructele anticorpului dezvăluite aici, înseamnă un construct de anticorp care a fost identificat, separat și/sau recuperat dintr-o componentă a mediului său de producție. De preferință, constructul anticorpului este liber sau substanțial lipsit de asociere cu toate celelalte componente din mediul său de producție. Componentele contaminante ale mediului său de producție, cum ar fi cel care rezultă din celulele transfectate recombinante, sunt materiale care ar interfera în mod obișnuit cu utilizările diagnostice sau terapeutice pentru polipeptidă și pot include enzime, hormoni și alte substanțe dizolvate proteice sau neproteice. Constructele anticorpului pot constitui, de ex., cel puțin aproximativ 5% sau cel puțin aproximativ 50% din greutatea proteinei totale dintr-o probă dată. Se înțelege că proteina izolată poate constitui de la 5% la 99,9% din greutatea conținutului total de proteine, în funcție de circumstanțe. Polipeptida poate fi realizată la o concentrație semnificativ mai mare prin utilizarea unui promotor inductibil sau promotor cu expresie ridicată, astfel încât să fie produs la niveluri crescute de concentrație. Definiția include producerea unui construct de anticorp într-o mare varietate de organisme și/sau celule gazdă care sunt cunoscute în domeniu. În realizări preferate, constructul anticorpului va fi purificat (1) într-un grad suficient pentru a obține cel puțin 15 reziduuri de secvență de aminoacizi cu N-terminal sau intern prin utilizarea unei cupe de secvențiere de filare sau (2) la omogenitate prin SDS-PAGE în condiții nereducătoare sau reducătoare utilizând pete de albastru Coomassie sau, de preferință, de argint. În mod obișnuit, totuși, un construct de anticorp izolat va fi preparat prin cel puțin o etapă de purificare.

Termenul "domeniu de legare" caracterizează în legătură cu prezenta invenție un domeniu care (în mod specific) se leagă de/interacționează cu/recunoaște un epitop țintă dat sau un situs țintă dat pe moleculele țintă (antigeni), aici: DLL3 și CD3, respectiv. Structura și funcția primului domeniu de legare (recunoscând DLL3) și, de preferință, și structura și/sau funcția celui de-al doilea domeniu de legare (recunoscând CD3), se bazează pe structura și/sau funcția unui anticorp, de ex. a unei molecule de imunoglobulină de lungime întreagă sau întreagă. Conform invenției, primul domeniu de legare este caracterizat prin prezența a trei CDR de lanț ușor (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VL) și trei CDR de lanț greu (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VH). Al doilea domeniu de legare cuprinde, de asemenea, de asemenea, cerințele structurale minime ale unui anticorp care permit legarea țintei. Mai preferabil, al doilea domeniu de legare cuprinde cel puțin trei CDR-uri cu lanț ușor (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VL) și/sau trei CDR-uri cu lanț greu (adică CDR1, CDR2 și CDR3 din regiunea VH). Se preconizează că primul și/sau al doilea domeniu de legare este produs prin sau poate fi obținut prin afișarea fagilor sau prin metode de screening de bibliotecă, mai degrabă decât prin grefarea secvențelor CDR dintr-un anticorp preexistent (monoclonal) într-un eșafod cadru.

Conform prezentei invenții, domeniile de legare sunt sub forma uneia sau mai multor polipeptide. Astfel de polipeptide pot include părți proteice și părți neproteice (de ex., linkeri chimici sau agenți chimici de reticulare, cum ar fi glutaraldehida). Proteinele (inclusiv fragmente ale acestora, de preferință fragmente biologic active și peptide, având de obicei mai puțin de 30 de aminoacizi) cuprind doi sau mai mulți aminoacizi cuplați între ei printr-o legătură peptidică covalentă (rezultând un lanț de aminoacizi). Termenul "polipeptidă" așa cum este utilizat aici descrie un grup de molecule, care constau de obicei din mai mult de 30 de aminoacizi. Polipeptidele pot forma în continuare multimeri, cum ar fi dimerii, trimerii și oligomerii superiori, *adică* constând din mai multe molecule de polipeptidă. Moleculele polipeptidice care formează astfel de dimeri, trimeri etc. pot fi identice sau neidentice. Structurile corespunzătoare de ordin superior ale acestor multimeri sunt, în consecință, denumite homo- sau heterodimeri, homo- sau heterotrimeri etc. Un exemplu pentru un heteromultimer este o moleculă de anticorp, care, în forma sa naturală, constă din două lanțuri polipeptidice ușoare identice și două lanțuri polipeptidice grele identice. Termenii "peptidă", "polipeptidă" și "proteină" se referă, de asemenea, la peptide/polipeptide/proteine modificate în mod natural în care modificarea este efectuată de ex. prin modificări post-tranlaționale precum glicozilarea, acetilarea, fosforilarea și altele asemenea. O "peptidă", "polipeptidă" sau "proteină", la care se face referire aici, poate fi, de asemenea, modificată chimic, cum ar fi pegilată. Astfel de modificări sunt bine cunoscute în domeniu și descrise aici mai jos.

De preferință, domeniul de legare care se leagă de DLL3 și/sau domeniul de legare care se leagă de CD3 este/sunt domenii de legare umane. Anticorpii și constructele de anticorpi cuprinzând cel puțin un domeniu de legare uman evită unele dintre problemele asociate cu anticorpii sau constructele de anticorpi care posedă regiuni non-umane, cum ar fi de rozătoare (de ex. murin, șobolan, hamster sau iepure) regiuni variabile și/sau constante. Prezența unor astfel de proteine derivate din rozătoare poate duce la eliminarea rapidă a anticorpilor sau a constructelor de

anticorpi sau poate duce la generarea unui răspuns imun împotriva anticorpului sau a constructului de anticorp de către un pacient. Pentru a evita utilizarea anticorpilor derivați de rozătoare sau a constructelor de anticorpi, anticorpii/constructele umane sau anticorpi umani compleți pot fi generați prin introducerea funcției anticorpului uman într-un rozător, astfel încât rozătoarele să producă anticorpi complet umani.

Abilitatea de a clona și de a reconstrui locusuri umane de dimensiunea megabazei în YAC și de a le introduce în linia germinativă a șoarecilor oferă o abordare puternică pentru elucidarea componentelor funcționale ale locusurilor foarte mari sau mapate grosier, precum și generarea de modele utile de boală umană. În plus, utilizarea unei astfel de tehnologii pentru înlocuirea locusurilor de șoarece cu echivalenții lor umani ar putea oferi informații unice asupra expresiei și reglării produselor genetice umane în timpul dezvoltării, comunicării lor cu alte sisteme și implicării lor în inducerea și progresia bolii.

O aplicație practică importantă a unei astfel de strategii este „umanizarea” sistemului imunitar umoral al șoarecelui. Introducerea locusurilor imunoglobulinei umane (Ig) în șoareci la care genele Ig endogene au fost inactivate oferă posibilitatea de a studia mecanismele care stau la baza expresiei și asamblării programate a anticorpilor, precum și rolul lor în dezvoltarea celulelor B. Mai mult, o astfel de strategie ar putea oferi o sursă ideală pentru producerea de anticorpi monoclonali complet umani (mAb) - o etapă importantă pentru îndeplinirea promisiunii terapiei cu anticorpi în bolile umane. Se așteaptă ca anticorpii sau constructele de anticorpi complet umani să minimizeze răspunsurile imunogene și alergice intrinseci la mAb-urile de șoareci sau derivate de la șoareci și astfel să crească eficacitatea și siguranța anticorpilor/constructelor de anticorpi administrați. Se poate aștepta ca utilizarea anticorpilor complet umani sau a constructelor de anticorpi să ofere un avantaj substanțial în tratamentul bolilor umane cronice și recurente, cum ar fi inflamația, autoimunitatea și cancerul, care necesită administrări repetate de compuși.

O abordare a acestui obiectiv a fost de a proiecta tulpini de șoarece deficiente în producția de anticorpi de șoarece cu fragmente mari de locusuri Ig umane în anticiparea faptului că astfel de șoareci ar produce un repertoriu larg de anticorpi umani în absența anticorpilor de șoarece. Fragmente mari de Ig umană ar păstra marea diversitate de gene variabile, precum și reglarea adecvată a producției și exprimării anticorpilor. Prin exploatarea mașinărilor de șoarece pentru diversificarea și selecția anticorpilor și lipsa toleranței imunologice la proteinele umane, repertoriul de anticorpi umani reproduc în aceste tulpini de șoarece ar trebui să producă anticorpi cu afinitate ridicată împotriva oricărui antigen de interes, inclusiv antigeni umani. Folosind tehnologia hibridomului, mAb-urile umane specifice antigenului cu specificitatea dorită ar putea fi produse și selectate cu ușurință. Această strategie generală a fost demonstrată în legătură cu generarea primelor tulpini de șoarece XenoMouse (vezi Green și colab. *Nature Genetics* 7: 13-21 (1994)). Tulpinile XenoMouse au fost proiectate cu cromozomi artificiali de drojdie (YAC) care conțin fragmente de configurație a liniei germinale de 245 kb și 190 kb fragmente de configurație a liniei germinale dimensionate ale locusului lanțului greu uman și, respectiv, al locusului lanțului ușor kappa, care conține secvențe variabile de bază și regiuni constante. YAC-urile care conțin Ig umană s-au dovedit a fi compatibile cu sistemul șoarecelui atât pentru rearanjare, cât și pentru exprimarea anticorpilor și au fost capabile să înlocuiască genele Ig de șoarece inactivate. Acest lucru a fost demonstrat de capacitatea lor de a induce dezvoltarea celulelor B, de a produce un repertoriu uman asemănător adulților cu anticorpi complet umani și de a genera mAb umani specifici antigenului. Aceste rezultate au sugerat, de asemenea, că introducerea unor porțiuni mai mari ale locusurilor Ig umane care conțin un număr mai mare de gene V, elemente de reglare suplimentare și regiuni constante de Ig umane ar putea recapitula substanțial repertoriul complet care este caracteristic răspunsului umoral uman la infecție și imunizare. Lucrarea lui Green și colab. a fost extinsă recent la introducerea a mai mult de aproximativ 80% din repertoriul de anticorpi umani prin introducerea fragmentelor YAC de configurație a liniei germinale de dimensiunea megabazei, locusuri ale lanțului greu uman și, respectiv, locusuri ale lanțului ușor kappa. Vezi Mendez și colab. *Nature Genetics* 15: 146-156 (1997).

Producția de XenoMouse de șoarece este discutată în continuare și delimitată în brevetul U.S. Nr. 6.673.986, brevetele U.S. Nr. 6.162.963; 6.150.584; 6.114.598; 6.075.181, și 5.939.598 precum și cererile de brevet US și brevetele japoneze nr. 3 068 180 B2, 3 068 506 B2, și 3 068 507 B2. Vezi de asemenea Mendez și colab. *Nature Genetics* 15:146-156 (1997) și Green și Jakobovits *J. Exp. Med.* 188:483-495 (1998), EP 0 463 151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310, și WO 03/47336.

Intr-o abordare alternativă, alții, inclusiv GenPharm International, Inc., au folosit o abordare „minilocus”. În abordarea minilocusului, un locus de Ig exogenă este mimat prin includerea de piese (gene individuale) din locusul Ig. Astfel, una sau mai multe gene VH, una sau mai multe gene DH, una sau mai multe gene JH, o regiune constantă mu și o a doua regiune

constantă (de preferință o regiune constantă gamma) sunt formate într-un construct pentru inserare într-un animal. Această abordare este descrisă în brevetul US nr. 5.545.807 de către Surani și colab. și brevetele US Nr. 5.545.806; 5.625.825; 5.625.126; 5.633.425; 5.661.016; 5.770.429; 5.789.650; 5.814.318; 5.877.397; 5.874.299; și 6.255.458 fiecare la Lonberg și Kay, brevetele U.S. Nr. 5.591.669 și 6.023.010 la Krimpenfort și Berns, brevetele U.S. Nr. 5.612.205; 5.721.367; și 5.789.215 la Berns și colab., și brevetul U.S. Nr. 5.643.763 la Choi și Dunn. Această abordare este descrisă în GenPharm International brevetele U.S. Nr. 5.569.825, 5.789.650, 5.545.806, 5.661.016, 5.814.318, și 5.364.079, precum și cererile de brevet de bază. Vezi de asemenea EP 0 546 073 B1, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852, și WO 98/24884 și brevetul U.S. Nr. 5.981.175. Vezi în continuare Taylor și colab. (1992), Chen și colab. (1993), Tuailon și colab. (1993), Choi și colab. (1993), Lonberg și colab. (1994), Taylor și colab. (1994), și Tuailon și colab. (1995), Fishwild și colab. (1996).

Kirin a demonstrat, de asemenea, generarea de anticorpi umani de la șoareci în care, prin fuziunea microcelulară, au fost introduse bucăți mari de cromozomi sau cromozomi întregi. A se vedea cererile de brevet european nr. 773 288 și 843 961. Xenex Biosciences dezvoltă o tehnologie pentru generarea potențială de anticorpi umani. În această tehnologie, șoarecii SCID sunt reconstituiți cu celule limfatice umane, de ex., celule B și/sau T. Șoarecii sunt apoi imunizați cu un antigen și pot genera un răspuns imun împotriva antigenului. Vezi brevetele U.S. Nr. 5.476.996; 5.698.767; și 5.958.765.

Răspunsurile la anticorpi umani anti-șoarece (HAMA) au condus industria să prepare anticorpi himerici sau altfel umanizați. Cu toate acestea, este de așteptat ca anumite răspunsuri la anticorpi anti-himerici umani (HACA) să fie observate, în special în utilizările cronice sau cu doze multiple ale anticorpului. Astfel, ar fi de dorit să se furnizeze constructe de anticorpi cuprinzând un domeniu de legare uman împotriva DLL3 și/sau un domeniu de legare uman împotriva CD3 pentru a vicia preocupările și/sau efectele răspunsului HAMA sau HACA.

Termenii "(în mod specific) se leagă de", "(specific) recunoaște", "este (specific) direcționat către" și "(specific) reacționează cu" înseamnă în conformitate cu această invenție că un domeniu de legare interacționează sau interacționează specific cu un anumit epitop sau un situs țintă dat pe moleculele țintă (antigeni), aici: DLL3 și CD3, respectiv.

Termenul "epitop" se referă la un situs de pe un antigen de care se leagă specific un domeniu de legare, un anticorp sau imunoglobulină, sau un derivat, fragment sau variantă de anticorp sau imunoglobulină. Un "epitop" este antigenic și, prin urmare, termenul de epitop este uneori denumit și aici ca "structură antigenică" sau "determinant antigenic". Astfel, domeniul de legare este un „situs de interacțiune cu antigenul”. Această legare/interacțiune este, de asemenea, înțeleasă de a defini o „recunoaștere specifică”.

"Epitopii" pot fi formați atât din aminoacizi contigui, cât și din aminoacizi necontigui juxtapuși prin pliere terțiară a unei proteine. Un "epitop liniar" este un epitop în care o secvență primară de aminoacizi cuprinde epitopul recunoscut. Un epitop liniar include în mod tipic cel puțin 3 sau cel puțin 4 și, de obicei, cel puțin 5 sau cel puțin 6 sau cel puțin 7, de exemplu, aproximativ 8 până la aproximativ 10 aminoacizi într-o secvență unică.

Un "epitop conformațional", spre deosebire de un epitop liniar, este un epitop în care secvența primară a aminoacizilor care cuprind epitopul nu este singura componentă definitorie a epitopului recunoscut (de ex., un epitop în care secvența primară de aminoacizi este nu neapărat recunoscut de domeniul de legare). De obicei, un epitop conformațional cuprinde un număr crescut de aminoacizi față de un epitop liniar. În ceea ce privește recunoașterea epitopilor conformaționali, domeniul de legare recunoaște o structură tridimensională a antigenului, de preferință o peptidă sau proteină sau fragment al acestuia (în contextul prezentei invenții, structura antigenică pentru primul domeniu de legare este cuprinsă în proteina DLL3). De exemplu, atunci când o moleculă de proteină se pliază pentru a forma o structură tridimensională, anumiți aminoacizi și/sau scheletul polipeptidic care formează epitopul conformațional devin juxtapuse permițând anticorpului să recunoască epitopul. Metodele de determinare a conformației epitopilor includ, dar nu sunt limitate la, cristalografie cu raze X, spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară bidimensională (2D-RMN) și etichetare de spin direcționată către situs și spectroscopie de rezonanță paramagnetică de electron (EPR).

O metodă pentru maparea epitopului este descrisă în următoarele: Atunci când o regiune (o întindere de aminoacid contiguu) din proteina DLL3 umană este schimbată/înlocuită cu regiunea corespunzătoare a unui antigen DLL3 neuman și non-primat (de ex., DLL3 de șoarece, dar altele precum pui, șobolan, hamster, iepure etc. ar putea fi, de asemenea, de conceput), este de așteptat să se producă o scădere a legării domeniului de legare, cu excepția cazului în care domeniul de legare este reactiv încrucișat pentru DLL3 non-uman, non-primat utilizat. Respectiva

scădere este de preferință de cel puțin 10%, 20%, 30%, 40% sau 50%; mai preferabil cel puțin 60%, 70% sau 80%, și cel mai preferabil 90%, 95% sau chiar 100% în comparație cu legarea la regiunea respectivă în proteina DLL3 umană, prin care se leagă la regiunea respectivă la om proteina DLL3 este setată să fie 100%. Se preconizează că himerele DLL3 umane/DLL3 non-umane menționate mai sus sunt exprimate în celule CHO. De asemenea, se preconizează că himerele DLL3 umane/DLL3 neumane sunt fuzionate cu un domeniu transmembranar și/sau un domeniu citoplasmatic al unei proteine diferite legate de membrană, cum ar fi EpCAM.

Intr-o metodă alternativă sau suplimentară pentru maparea epitopului, pot fi generate mai multe versiuni trunchiate ale domeniului extracelular DLL3 uman pentru a determina o regiune specifică care este recunoscută de un domeniu de legare. În aceste versiuni trunchiate, diferitele domenii/subdomenii extracelulare DLL3 sau regiuni sunt șterse treptat, începând de la capătul N-terminal. Versiunile trunchiate DLL3 care au fost generate și utilizate în contextul prezentei invenții sunt prezentate în Figura 1. Se are în vedere ca versiunile DLL3 trunchiate să fie exprimate în celule CHO. De asemenea, este prevăzut ca versiunile trunchiate DLL3 să fie fuzionate cu un domeniu transmembranar și/sau un domeniu citoplasmatic al unei proteine diferite legate de membrană, cum ar fi EpCAM. De asemenea, se preconizează că versiunile DLL3 trunchiate cuprind un domeniu peptidic de semnal la capătul N-terminal, de exemplu o peptidă semnal derivată din peptida semnal cu lanț greu IgG de soarece. Mai mult, este prevăzut ca versiunile trunchiate DLL3 să cuprindă un domeniu v5 la capătul N-terminal (după peptida semnalului) care permite verificarea exprimării corecte a acestora pe suprafața celulei. Se așteaptă o scădere sau o pierdere a legării cu acele versiuni DLL3 trunchiate care nu mai cuprind regiunea DLL3 care este recunoscută de domeniul de legare. Scăderea legării este de preferință de cel puțin 10%, 20%, 30%, 40%, 50%; mai preferabil cel puțin 60%, 70%, 80% și cel mai preferabil 90%, 95% sau chiar 100%, prin care legarea la întreaga proteină DLL3 umană (sau regiunea sau domeniul său extracelular) este setată să fie 100%. O metodă de testare a acestei pierderi de legare este descrisă în Exemplul 2.

O altă metodă pentru a determina contribuția unui reziduu specific al unui antigen țintă la recunoașterea de către un construct de anticorp sau un domeniu de legare este scanarea alaninei (vezi de ex. Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun;5(3):302-7), unde fiecare reziduu de analizat este înlocuit cu alanină, de ex. prin mutageneză direcționată către situs. Alanina este utilizată datorită grupului său funcțional metil nevoluminos, inert chimic, care totuși imită referințele structurii secundare pe care o posedă mulți dintre ceilalți aminoacizi. Uneori, aminoacizii voluminoși, cum ar fi valina sau leucina, pot fi utilizați în cazurile în care se dorește conservarea dimensiunii reziduurilor mutante. Scanarea cu alanină este o tehnologie matură care a fost utilizată pentru o perioadă lungă de timp.

Interacțiunea dintre domeniul de legare și epitopul sau regiunea care cuprinde epitopul implică faptul că un domeniu de legare prezintă o afinitate apreciabilă pentru epitopul/regiunea care cuprinde epitopul pe o anumită proteină sau antigen (aici: DLL3 și respectiv CD3) și, în general, nu prezintă o reactivitate semnificativă cu alte proteine sau antigeni decât DLL3 sau CD3. „Afinitate apreciabilă” include legarea cu o afinitate de aproximativ  $10^{-6}$  M (KD) sau mai puternică. De preferință, legarea este considerată specifică atunci când afinitatea de legare este de aproximativ  $10^{-12}$  până la  $10^{-8}$  M,  $10^{-12}$  până la  $10^{-9}$  M,  $10^{-12}$  până la  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  până la  $10^{-8}$  M, preferabil de aproximativ  $10^{-11}$  până la  $10^{-9}$  M. Dacă un domeniu de legare reacționează în mod specific cu sau se leagă de o țintă poate fi testat cu ușurință, *printre altele*, comparand reacția domeniului de legare menționat cu o proteină sau antigen țintă cu reacția domeniului de legare menționat cu proteine sau antigeni, altele decât DLL3 sau CD3. De preferință, un domeniu de legare al invenției nu se leagă în mod esențial sau substanțial de alte proteine sau antigeni decât DLL3 sau CD3 (*adică*, primul domeniu de legare nu este capabil să se lege de alte proteine decât DLL3 și al doilea domeniu de legare nu este capabil de legare la alte proteine decât CD3).

Termenul „nu se leagă în mod esențial/substanțial” sau „nu este capabil de legare” înseamnă că un domeniu de legare conform prezentei invenții nu leagă o altă proteină sau antigen decât DLL3 sau CD3, *adică* nu prezintă reactivitate mai mare de 30 %, preferabil nu mai mult de 20%, mai preferabil nu mai mult de 10%, în special preferabil nu mai mult de 9%, 8%, 7%, 6% sau 5% cu alte proteine sau antigeni decât DLL3 sau CD3, prin care se leagă la DLL3 sau CD3, respectiv, este setată să fie 100%.

De asemenea, se preconizează că constructele de anticorpi conform prezentei invenții se leagă la o izoformă DLL3 umană având una sau ambele dintre următoarele mutații punctuale DLL3: F172C și L218P. Vezi Exemplul 5.

Se consideră că legarea specifică se realizează prin motive specifice în secvența de aminoacizi a domeniului de legare și a antigenului. Astfel, legarea se realizează ca urmare a structurii lor primare, secundare și/sau terțiare, precum și a rezultatului modificărilor secundare ale

structurilor menționate. Interacțiunea specifică a situsului de interacțiune antigen cu antigenul său specific poate duce la o legare simplă a situsului menționat la antigen. Mai mult, interacțiunea specifică a situsului de interacțiune antigen cu antigenul său specific poate duce alternativ sau suplimentar la inițierea unui semnal, de ex. datorită inducerii unei modificări a conformației antigenului, a unei oligomerizări a antigenului etc.

Construcțiile anticorpului conform invenției se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260, corespunzător unei întinderi de aminoacizi care cuprinde regiunile EGF-3 și EGF-4 așa cum sunt definite în revendicări. Au fost generate și alte grupuri de lianți anti-DLL3 și specificitățile lor de legare a DLL3 au fost identificate în timpul mapării epitopului (vezi Exemplul 2).

Cel mai mare grup de lianți generați a recunoscut un epitop în domeniul DSL. Cu toate acestea, niciuna dintre aceste construcții de anticorpi nu a îndeplinit criteriile pentru o activitate citotoxică suficientă într-un test inițial de citotoxicitate bazat pe  $^{51}\text{Cr}$  de 18 ore cu celule T CD8+ umane stimulate ca celule efectoare și celule CHO transfectate cu DLL3 hu ca celule țintă.

Intr-un test inițial de citotoxicitate bazat pe FACS de 48 de ore (folosind PBMC uman nestimulat ca celule efectoare și celule CHO transfectate cu hu DLL3 ca celule țintă), acești lianți care au recunoscut un epitop DLL3 în capătul N-terminal al proteinei au avut valori EC50 între 1455 și 1580 pM. În contextul actual, aceste valori nu sunt considerate adecvate pentru anticorpii bispecifici care sunt furnizați pentru o utilizare terapeutică în direcționarea sistemului imunitar al unui pacient, mai exact a activității citotoxice a celulelor T, împotriva celulelor canceroase.

În cele din urmă, un alt grup de lianți a fost generat și caracterizat pentru activitatea sa citotoxică într-o varietate de teste. Maparea epitopului acestor lianți a dezvăluit o specificitate pentru un epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-5 și, într-o oarecare măsură, și în regiunea EGF-6 (pentru detalii, vezi Exemplul 2). O vedere de ansamblu a datelor generate în diferite teste de citotoxicitate (vezi exemplele 8.3, 8.5, 8.6 și 8.7) pentru acești lianți denumiți DLL3-18, DLL3-19, DLL3-20 și DLL3-21 au dezvăluit următoarele: Deși nu toți lianții eșuează în toate testele în ceea ce privește valorile EC50 favorabile, întregul grup este în mod clar subeficient în comparație cu construcțiile anticorpilor conform invenției. Această observație este evidențiată printr-o umbră mai întunecată a rezultatelor prezentate în Tabelele 6-9.

Pe scurt, se poate afirma clar că construcțiile de anticorp conform invenției (care se leagă de un epitop al DLL3 cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260) arată de departe cea mai bună performanță a activității în comparație cu o varietate de alte grupuri de lianți DLL3 având diferite specificități de epitopi. Cu alte cuvinte, construcțiile de anticorpi conform invenției prezintă o relație favorabilă epitop-activitate, susținând astfel activitatea citotoxică mediată de un anticorp bispecific puternic.

Intr-un aspect, prezenta invenție oferă un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 258, în care primul domeniu de legare a constructului de anticorp bispecific al invenției cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din:

- a) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 31, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 32, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 33, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 34, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 35 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 36;
- b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 41, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 42, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 43, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 44, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 45 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 46;
- c) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 51, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 52, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 53, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 54, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 55 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 56;
- d) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 61, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 62, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 63, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 64, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 65 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 66;
- e) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 71, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 72, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 73, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 74, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 75 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 76;

f) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 81, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 82, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 83, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 84, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 85 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 86;

g) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 91, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 92, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 93, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 94, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 95 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 96;

h) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 101, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 102, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 103, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 104, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 105 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 106;

i) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 111, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 112, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 113, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 114, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 115 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 116.

Termenul „variabil” se referă la porțiunile de anticorpi sau domenii de imunoglobulină care prezintă variabilitate în secvența lor și care sunt implicate în determinarea specificității și afinității de legare a unui anticorp particular (adică „domeniul(e) variabil(e)”). Împerecherea unui lanț greu variabil (VH) și a unui lanț ușor variabil (VL) formează împreună un singur situs de legare a antigenului.

Variabilitatea nu este distribuită uniform în domeniile variabile ale anticorpilor; este concentrată în subdomenii ale fiecărei regiuni variabile ale lanțului greu și ușor. Aceste subdomenii sunt numite „regiuni hipervariabile” sau „regiuni care determină complementaritatea” (CDR). Porțiunile mai conservate (adică, nehipervariabile) ale domeniilor variabile sunt numite regiuni „cadru” (FRM sau FR) și oferă un eșafod pentru cele șase CDR-uri în spațiu tridimensional pentru a forma o suprafață care leagă antigenul. Domeniile variabile ale lanțurilor grele și ușoare care apar în mod natural cuprind fiecare patru regiuni FRM (FR1, FR2, FR3 și FR4), adoptând în mare măsură o configurație de foaie  $\beta$ , conectată prin trei regiuni hipervariabile, care formează bucle de conectare și, în unele cazuri, formează parte a structurii foi  $\beta$ . Regiunile hipervariabile din fiecare lanț sunt ținute împreună în apropiere de FRM și, împreună cu regiunile hipervariabile din celălalt lanț, contribuie la formarea situsului de legare a antigenului (vezi Kabat și colab., *loc. cit.*).

Termenii "CDR" și pluralul său "CDR" se referă la regiunea de determinare a complementarității din care trei alcătuiesc caracterul de legare al unei regiuni variabile cu lanț ușor (CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3) și trei alcătuiesc caracterul de legare al unei regiuni variabile cu lanț greu (CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3). CDR-urile conțin majoritatea reziduurilor responsabile de interacțiunile specifice ale anticorpului cu antigenul și, prin urmare, contribuie la activitatea funcțională a unei molecule de anticorp: sunt principalii factori determinanți ai specificității antigenului.

Limitele CDR definitive exacte și lungimile sunt supuse unor sisteme diferite de clasificare și numerotare. Prin urmare, CDR-urile pot fi menționate de Kabat, Chothia, contact sau orice altă definiție a limitelor, inclusiv sistemul de numerotare descris aici. În ciuda limitelor diferite, fiecare dintre aceste sisteme are un anumit grad de suprapunere în ceea ce constituie așa-numitele „regiuni hipervariabile” în cadrul secvențelor variabile. Definițiile CDR conform acestor sisteme pot, prin urmare, să difere în lungime și zone de graniță în raport cu regiunea cadru adiacentă. Vezi de exemplu Kabat (o abordare bazată pe variabilitatea secvenței între specii), Chothia (o abordare bazată pe studii cristalografice a complexilor antigen-anticorp) și/sau MacCallum (Kabat și colab., *loc. cit.*; Chothia și colab., J. Mol. Biol., 1987, 196: 901-917; și MacCallum și colab., J. Mol. Biol., 1996, 262: 732). Un alt standard pentru caracterizarea situsului de legare a antigenului este definiția AbM utilizată de software-ul de modelare a anticorpilor AbM de la Oxford Molecular. Vezi, *de ex.*, secvența de proteine și analiza structurii domeniilor variabile ale anticorpilor. În: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). În măsura în care două tehnici de identificare a reziduurilor definesc regiuni care se suprapun, dar nu regiuni identice, ele pot fi combinate pentru a defini un CDR hibrid. Totuși, este preferată numerotarea în conformitate cu așa-numitul sistem Kabat.

De obicei, CDR-urile formează o structură de buclă care poate fi clasificată ca o structură canonică. Termenul „structură canonică” se referă la conformația lanțului principal care este adoptat de buclele de legare a antigenului (CDR). Din studii structurale comparative, s-a constatat că cinci dintre cele șase bucle de legare a antigenului au doar un repertoriu limitat de conformații disponibile. Fiecare structură canonică poate fi caracterizată prin unghiurile de torsiune ale scheletului polipeptidic. Prin urmare, buclele corespondente dintre anticorpi pot avea structuri tridimensionale foarte asemănătoare, în ciuda variabilității ridicate a secvenței de aminoacizi în majoritatea părților buclelor. (Chothia și Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia și colab.,

Nature, 1989, 342: 877; Martin și Thornton, J. Mol. Biol, 1996, 263: 800). Mai mult, există o relație între structura de buclă adoptată și secvențele de aminoacizi care o înconjoară. Conformația unei anumite clase canonice este determinată de lungimea buclei și de resturile de aminoacizi care se află în poziții cheie în buclă, precum și în cadrul conservat (*adică*, în afara buclei). Atribuirea la o anumită clasă canonică se poate face, prin urmare, pe baza prezenței acestor resturi cheie de aminoacizi.

Termenul "structură canonică" poate include, de asemenea, considerații cu privire la secvența liniară a anticorpului, de exemplu, așa cum este catalogat de Kabat (Kabat și colab., *loc. cit.*). Schema (sistemul) de numerotare Kabat este un standard adoptat pe scară largă pentru numerotarea reziduurilor de aminoacizi dintr-un domeniu variabil de anticorp într-o manieră consistentă și este schema preferată aplicată în prezenta invenție, așa cum este menționat și în altă parte aici. Considerații structurale suplimentare pot fi, de asemenea, utilizate pentru a determina structura canonică a unui anticorp. De exemplu, acele diferențe care nu sunt reflectate pe deplin de numerotarea Kabat pot fi descrise de sistemul de numerotare al lui Chothia și colab. și/sau dezvăluite prin alte tehnici, de exemplu, cristalografia și modelarea computațională bidimensională sau tridimensională. În consecință, o anumită secvență de anticorpi poate fi plasată într-o clasă canonică care permite, printre altele, identificarea secvențelor de schelet adecvate (de ex., pe baza dorinței de a include o varietate de structuri canonice într-o bibliotecă). Numerotarea Kabat a secvențelor de aminoacizi a anticorpilor și considerațiile structurale descrise de Chothia și colab., *loc. cit.* și implicațiile lor pentru aspectele canonice de construire ale structurii anticorpilor sunt descrise în literatura de specialitate. Structurile subunității și configurațiile tridimensionale ale diferitelor clase de imunoglobuline sunt bine cunoscute în domeniu. Pentru o revizuire a structurii anticorpilor, vezi Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow și colab., 1988.

CDR3 al lanțului ușor și, în special, CDR3 al lanțului greu pot constitui cei mai importanți factori determinanți în legarea antigenului în regiunile variabile ale lanțului ușor și greu. În unele constructe de anticorpi, lanțul greu CDR3 pare să constituie zona principală de contact dintre antigen și anticorp. Schemele de selecție *in vitro* în care CDR3 singur este variat pot fi utilizate pentru a varia proprietățile de legare ale unui anticorp sau pentru a determina ce reziduuri contribuie la legarea unui antigen. Prin urmare, CDR3 este de obicei cea mai mare sursă de diversitate moleculară în cadrul situsului de legare a anticorpului. H3, de exemplu, poate fi la fel de scurt ca două resturi de aminoacizi sau mai mare de 26 de aminoacizi.

Intr-un anticorp clasic de lungime completă sau imunoglobulină, fiecare lanț ușor (L) este legat de un lanț greu (H) printr-o legătură disulfură covalentă, în timp ce cele două lanțuri H sunt legate între ele prin una sau mai multe legături disulfurice în funcție de izotipul lanțului H. Domeniul CH cel mai apropiat de VH este de obicei desemnat ca CH1. Domeniile constante ("C") nu sunt direct implicate în legarea antigenului, dar prezintă diferite funcții efectoare, cum ar fi citotoxicitatea dependentă de anticorp, mediată de celule și activarea complementului. Regiunea Fc a unui anticorp este cuprinsă în domeniile constante ale lanțului greu și este, de exemplu, capabilă să interacționeze cu receptorii Fc situați la suprafața celulei.

Secvența genelor de anticorpi după asamblare și mutație somatică este foarte variată și se estimează că aceste gene variate codifică  $10^{10}$  molecule diferite de anticorpi (Immunoglobulin Genes, ediția a II-a, ed. Jonio și colab., Academic Press, San Diego, CA, 1995). În consecință, sistemul imunitar oferă un repertoriu de imunoglobuline. Termenul "repertoriu" se referă la cel puțin o secvență de nucleotide derivată în totalitate sau parțial din cel puțin o secvență care codifică cel puțin o imunoglobulină. Secvențele pot fi generate prin rearanjarea *in vivo* a segmentelor V, D și J ale lanțurilor grele și ale segmentelor V și J ale lanțurilor ușoare. Alternativ, secvențele pot fi generate dintr-o celulă ca răspuns la rearanjarea care are loc, de ex., stimularea *in vitro*. Alternativ, o parte sau toate secvențele pot fi obținute prin îmbinarea ADN-ului, sinteza nucleotidelor, mutagenază și alte metode, vezi, de ex., brevetul US 5.565.332. Un repertoriu poate include o singură secvență sau poate include o multitudine de secvențe, inclusiv cele dintr-o colecție genetică diversă.

Un construct de anticorp conform prezentei dezvăluiri poate fi definit și ca un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare (de preferință uman) care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare se leagă de același epitop al DLL3 ca un anticorp selectat din grupul constând din DLL3-4, DLL3-5, DLL3-6, DLL3-7, DLL3-8, DLL3-9, și DLL3-10, *adică*, un anticorp care cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din:

- a) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 31, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 32, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 33, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 34, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 35 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 36;
- 5 b) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 41, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 42, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 43, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 44, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 45 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 46;
- c) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 51, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 52, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 53, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 54, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 55 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 56;
- 10 d) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 61, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 62, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 63, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 64, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 65 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 66;
- e) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 71, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 72, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 73, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 74, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 75 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 76;
- 15 f) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 81, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 82, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 83, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 84, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 85 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 86; și
- g) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 91, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 92, CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 93, CDR-L1 cum s-a descris in SECV ID NR: 94, CDR-L2 cum s-a descris in SECV ID NR: 95 și CDR-L3 cum s-a descris in SECV ID NR: 96.

Indiferent dacă un construct de anticorp se leagă sau nu de același epitop al DLL3 ca un alt construct de anticorp dat poate fi măsurat de ex. prin maparea epitopului cu molecule țintă himerice sau trunchiate, de ex. așa cum este descris aici mai sus și în Exemplul 2.

- 25 Un construct de anticorp conform prezentei dezvoltări poate fi definit și ca un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare (de preferință uman) care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare concurează pentru legarea cu un anticorp selectat din grupul constând din DLL3-4, DLL3-5, DLL3-6, DLL3-7, DLL3-8, DLL3-9 și DLL3-10, *adică*, un anticorp care cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din cele descrise mai sus.
- 30

- Indiferent dacă un construct de anticorp concurează sau nu pentru legarea cu un alt construct de anticorp dat poate fi măsurat într-un test de concurență, cum ar fi un ELISA competitiv sau un test de concurență pe bază de celule. Pot fi utilizate și microparticule cuplate cu avidină (mărgel). Similar unei plăci ELISA acoperite cu avidină, atunci când reacționează cu o proteină biotinitată, fiecare dintre aceste mărgel poate fi utilizată ca substrat pe care se poate efectua un test. Antigenul este acoperit pe o mărgea și apoi pre-acoperit cu primul anticorp. Se adaugă al doilea anticorp și se determină orice legare suplimentară. Citirea are loc prin citometrie de flux.
- 35
- 40

- Intr-o formă de realizare a invenției, primul domeniu de legare a constructului anticorpului conform invenției cuprinde o regiune VH selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 37, SECV ID NR: 47, SECV ID NR: 57, SECV ID NR: 67, SECV ID NR: 77, SECV ID NR: 87, SECV ID NR: 97, SECV ID NR: 107, SECV ID NR: 117, SECV ID NR: 435, și SECV ID NR: 529.
- 45

- Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare a constructului de anticorp din invenție cuprinde o regiune VL selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 38, SECV ID NR: 48, SECV ID NR: 58, SECV ID NR: 68, SECV ID NR: 78, SECV ID NR: 88, SECV ID NR: 98, SECV ID NR: 108, SECV ID NR: 118, SECV ID NR: 436, și SECV ID NR: 530.
- 50

- Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare al constructului de anticorp din invenție cuprinde o regiune VH și o regiune VL selectată din grupul constând din perechi de regiune VH și regiune VL așa cum este descris în SECV ID NR: 37+38; SECV ID NR: 47+48; SECV ID NR: 57+58; SECV ID NR: 67+68; SECV ID NR: 77+78; SECV ID NR: 87+88; SECV ID NR: 97+98; SECV ID NR: 107+108; SECV ID NR: 117+118; SECV ID NR: 435+436; și SECV ID NR: 529+530.
- 55

- Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare a constructului de anticorp din invenție cuprinde o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR.: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 437, și SECV ID NR: 531.
- 60

Primele domenii de legare de mai sus (care sunt specificate prin CDR-urile lor, regiunea VH și regiunea VL și combinațiile acestora) se caracterizează ca domenii de legare care se leagă la un epitop DLL3 cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 258.

Termenul "bispecific" așa cum este utilizat aici se referă la un construct de anticorp care este "cel puțin bispecific", *adică* cuprinde cel puțin un prim domeniu de legare și un al doilea domeniu de legare, în care primul domeniu de legare se leagă de un antigen sau țintă (aici: DLL3), și al doilea domeniu de legare se leagă de un alt antigen sau țintă (aici: CD3). În consecință, constructele de anticorpi conform invenției cuprind specificități pentru cel puțin doi antigeni sau ținte diferite. Termenul „construct de anticorp bispecific” al invenției cuprinde, de asemenea, constructe de anticorpi multispecifici, cum ar fi constructe de anticorpi trispecifici, acestea din urmă incluzând trei domenii de legare, sau constructe având mai mult de trei (de ex., patru, cinci ...) specificități.

Având în vedere că constructele anticorpului conform invenției sunt (cel puțin) bispecifice, ele nu apar în mod natural și sunt semnificativ diferite de produsele naturale. Un construct de anticorp "bispecific" sau imunoglobulină este, prin urmare, un anticorp hibrid artificial sau imunoglobulină având cel puțin două situsuri de legare distincte cu specificități diferite. Constructele de anticorpi bispecifici pot fi produse printr-o varietate de metode, inclusiv fuziunea hibridomilor sau legarea fragmentelor Fab'. See, de ex., Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

Cel cel puțin două domenii de legare și domeniile variabile ale constructului anticorpului din prezenta invenție pot cuprinde sau nu linkerii peptidici (peptide distanțier). Termenul "linker peptidic" cuprinde în conformitate cu prezenta invenție o secvență de aminoacizi prin care secvențele de aminoacizi ale unui domeniu (variabil și/sau de legare) și un alt domeniu (variabil și/sau de legare) al constructului anticorpului conform invenției sunt legate între ele. O caracteristică tehnică esențială a unui astfel de linker peptidic este că acesta nu cuprinde nici o activitate de polimerizare. Printre linkerii peptidici adecvați sunt cei descriși în brevetele US 4.751.180 și 4.935.233 sau WO 88/09344. Linkerii peptidici pot fi, de asemenea, utilizați pentru a atașa alte domenii sau module sau regiuni (cum ar fi domeniile care se extind cu timpul de înjumătățire) la constructul anticorpului conform invenției.

În cazul în care se utilizează un linker, acest linker are, de preferință, o lungime și o secvență suficientă pentru a se asigura că fiecare dintre primul și al doilea domeniu își pot păstra, independent unul de celălalt, specificitățile de legare diferențiale. Pentru linkerii peptidici care conectează cel puțin două domenii de legare (sau două domenii variabile) în constructul anticorpului conform invenției, sunt preferați acei linkerii peptidici care cuprind doar un număr de resturi de aminoacizi, *de ex.* 12 reziduuri de aminoacizi sau mai puțin. Astfel, sunt preferați linkerii peptidici de 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 sau 5 resturi de aminoacizi. Un linker peptidic prevăzut cu mai puțin de 5 aminoacizi cuprinde 4, 3, 2 sau un aminoacid(i), în care sunt preferați linkerii bogați în Gly. Un aminoacid „unic” preferat în special în contextul „linkerului peptidic” este Gly. În consecință, linkerul peptidic menționat poate consta din aminoacidul unic Gly. O altă realizare preferată a unui linker peptidic este caracterizată prin secvența de aminoacizi Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, *adică* Gly<sub>4</sub>Ser (SECV ID NR.: 286), sau polimeri ai acestuia, *adică* (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>x</sub>, în care x este un întreg de 1 sau mai mare (de ex. 2 sau 3). Linkerii preferați sunt descriși în SECV ID NR: 285-293. Caracteristicile linkerului peptidic menționat, care cuprind absența promovării structurilor secundare, sunt cunoscute în domeniu și sunt descrise de ex. în Dall'Acqua și colab. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle și colab. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) și Raag și Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Sunt de preferat linkerii peptidici care, în plus, nu promovează nici o structură secundară. Legătura dintre domeniile menționate între ele poate fi asigurată, *de ex.*, prin inginerie genetică, așa cum este descris în exemple. Metodele de preparare a constructelor de lanț unic bispecifice fuzionate și legate funcțional și de a le exprima în celule de mamifere sau bacterii sunt bine cunoscute în domeniu (*de ex.*, WO 99/54440 sau Sambrook și colab., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

Așa cum este descris aici mai sus, invenția furnizează un exemplu de realizare preferat în care constructul anticorpului este într-un format selectat din grupul constând din (scFv)<sub>2</sub>, mAb cu domeniu unic scFv, diacorpi și oligomeri ai oricăruia dintre formatele anterior menționate. Termenul „este într-un format” nu exclude faptul că constructul poate fi modificat în continuare, de ex. prin atașare sau fuziune la alte fragmente, așa cum este descris aici.

Conform unui exemplu de realizare preferat în mod particular, și așa cum este documentat în exemplele anexate, constructul anticorpului conform invenției este un "construct de anticorp bispecific cu un singur lanț", mai preferabil un "Fv cu un singur lanț" bispecific (scFv). Deși cele două domenii ale fragmentului Fv, VL și VH, sunt codificate de gene separate, ele pot fi

unite, folosind metode recombinante, printr-un linker sintetic - așa cum este descris mai sus - care le permite să fie realizate ca un singur lanț proteic în care regiunile VL și VH le împerechează pentru a forma o moleculă monovalentă; vezi, *de ex.*, Huston și colab. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci SUA 85: 5879-5883). Aceste fragmente de anticorpi sunt obținute folosind tehnici convenționale cunoscute de specialiștii în domeniu, iar fragmentele sunt evaluate pentru funcționare în același mod ca și anticorpii compleți sau de lungime completă. Un fragment variabil cu un singur lanț (scFv) este, prin urmare, o proteină de fuziune a regiunii variabile a lanțului greu (VH) și a lanțului ușor (VL) de imunoglobuline, de obicei conectată cu o peptidă scurtă de legătură de aproximativ zece până la aproximativ 25 aminoacizi, preferabil aproximativ 15 până la 20 de aminoacizi. Linkerul este de obicei bogat în glicină pentru flexibilitate, precum și serină sau treonină pentru solubilitate și poate conecta capătul N-terminal al VH cu capătul C-terminal al VL, sau *invers*. Această proteină păstrează specificitatea imunoglobulinei originale, în ciuda îndepărtării regiunilor constante și a introducerii linkerului.

Moleculele bispecifice cu lanț unic sunt cunoscute în domeniu și sunt descrise în WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Bruhl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Tehnici descrise pentru producerea de anticorpi cu lanț unic (vezi, *intre altele*, brevetul US 4.946.778, Kontermann and Dubel (2010), *loc. cit.* și Little (2009), *loc. cit.*) poate fi adaptat pentru a produce constructe de anticorpi cu lanț unic care recunosc în mod specific (o) țintă (ținte) aleasă.

Fragmentele variabile bivalente (denumite și divalente) sau bispecifice cu un singur lanț (bi-scFvs sau di-scFvs având formatul (scFv)<sub>2</sub> pot fi proiectate prin legarea a două molecule scFv (*de ex.*, cu linkeri așa cum este descris mai sus). Dacă aceste două molecule scFv au aceeași specificitate de legare, molecula rezultată (scFv)<sub>2</sub> va fi de preferință numită bivalentă (*adică* are două valențe pentru același epitop țintă). Dacă cele două molecule scFv au specificități de legare diferite, molecula rezultată (scFv)<sub>2</sub> va fi de preferință numită bispecifică. Legătura se poate face prin producerea unui singur lanț peptidic cu două regiuni VH și două regiuni VL, producând scFv in tandem (vezi *de ex.* Kufer P. și colab., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244). O altă posibilitate este crearea de molecule scFv cu peptide linker care sunt prea scurte pentru ca cele două regiuni variabile să se plieze împreună (*de ex.*, aproximativ cinci aminoacizi), forțând scFv-urile să dimerizeze. Acest tip este cunoscut sub numele de diacorpi (vezi, *de ex.*, Hollinger, Philipp și colab., (Iulie 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (14): 6444-8.).

Conform unui alt exemplu preferat de realizare a anticorpului conform invenției, lanțul greu (VH) și lanțul ușor (VL) al unui domeniu de legare (care se leagă fie la antigenul țintă DLL3, fie la CD3) nu sunt conectate direct printr-un linker peptidic așa cum este descris mai sus, dar domeniile de legare sunt formate așa cum este descris pentru diacorp. Astfel, VH al domeniului de legare CD3 poate fi fuzionat cu VL al domeniului de legare DLL3 printr-un linker peptidic și VH al domeniului de legare DLL3 este fuzionat cu VL al domeniului de legare CD3 prin intermediul unui astfel de linker peptidic.

Anticorpii cu un singur domeniu cuprind doar un domeniu variabil de anticorpi (monomeric) care este capabil să se lege selectiv de un antigen specific, independent de alte regiuni sau domenii V. Primii anticorpi cu un singur domeniu au fost proiectați din anticorpi cu lanț greu găsit în camelide și aceștia sunt numiți fragmente V<sub>H</sub>H. Peștii cartilaginoși au, de asemenea, anticorpi cu lanț greu (IgNAR) din care pot fi obținuți anticorpi cu un singur domeniu numiți fragmente V<sub>NAR</sub>. O abordare alternativă este împărțirea domeniilor variabile dimerice de imunoglobuline comune, de ex. de la oameni sau rozătoare în monomeri, obținând astfel VH sau VL ca un singur domeniu Ab. Deși majoritatea cercetărilor privind anticorpii cu un singur domeniu se bazează în prezent pe domenii variabile ale lanțului greu, nanocorpii derivați din lanțurile ușoare s-au dovedit a se lega în mod specific de epitopii țintă. Exemplele de anticorpi cu un singur domeniu se numesc sdAb, nanocorpi sau anticorpi cu un singur domeniu variabil.

A (cu un singur domeniu mAb)<sub>2</sub> este, prin urmare, un construct de anticorp monoclonal compus din (cel puțin) doi anticorpi monoclonali cu un singur domeniu, care sunt selectați individual din grupul care cuprinde VH, VL, V<sub>H</sub>H and V<sub>NAR</sub>. Linkerul este de preferință sub forma unui linker peptidic. În mod similar, un "mAb cu domeniu unic scFv" este un construct de anticorp monoclonal compus din cel puțin un anticorp cu un singur domeniu așa cum este descris mai sus și o moleculă scFv așa cum este descris mai sus. Din nou, linkerul este de preferință sub forma unui linker peptidic.

De asemenea, este prevăzut ca prezenta invenție să furnizeze un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T

- și CD3 de macac, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 259, în care primul domeniu de legare al constructului de anticorp bispecific cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din:
- a) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 121, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 122, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 123, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 124, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 125 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 126;
  - 10 b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - c) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 141, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 142, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 143, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 144,
  - 15 CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 145 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 146;
  - d) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 151, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 152, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 153, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 154, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 155 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 156;
  - și
  - 20 e) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 161, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 162, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 163, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 164, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 165 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 166;
  - f) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 439, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134,
  - 25 CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - g) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 440, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - h) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 441,
  - 30 CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - i) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 442, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - 35 j) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 443, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - k) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 444,
  - 40 CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - l) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 439, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 441, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;
  - și
  - 45 m) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 440, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 442, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136.

50 Intr-o variantă de realizare, primul domeniu de legare al constructului de anticorp conform invenției cuprinde o regiune VH selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR.: 127, SECV ID NR: 137, SECV ID NR: 147, SECV ID NR: 157, SECV ID NR: 167, SECV ID NR: 445, SECV ID NR: 446, SECV ID NR: 447, SECV ID NR: 448, SECV ID NR: 449, SECV ID NR: 450, SECV ID NR: 451, SECV ID NR: 452, SECV ID NR: 453, SECV ID NR: 454, și SECV ID NR: 455.

55 Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare a constructului de anticorp din invenție cuprinde o regiune VL selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 128, SECV ID NR: 138, SECV ID NR: 148, SECV ID NR: 158, SECV ID NR: 168, SECV ID NR: 456, SECV ID NR: 457, SECV ID NR: 458, SECV ID NR: 459, SECV ID NR: 460, SECV ID NR: 461, SECV ID NR: 462, SECV ID NR: 463, SECV ID NR: 464, SECV ID NR: 465, SECV ID NR: 466, SECV ID NR: 467, SECV ID NR: 468, SECV ID NR: 469, și SECV ID NR: 470.

Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare al constructului de anticorp din invenție cuprinde o regiune VH și o regiune VL selectată din grupul constând din perechi de regiune VH și regiune VL așa cum este descris în SECV ID NR: 127+128; SECV ID NR: 137+138; SECV ID NR: 147+148; SECV ID NR: 157+158; SECV ID NR: 167+168; SECV ID NR 137+456; SECV ID NR 137+457; SECV ID NR 137+458; SECV ID NR 137+459; SECV ID NR 137+460; SECV ID NR 445+138; SECV ID NR 446+138; SECV ID NR 447+138; SECV ID NR 445+460; SECV ID NR 448+461; SECV ID NR 449+462; SECV ID NR 450+463; SECV ID NR 450+464; SECV ID NR 450+465; SECV ID NR 450+466; SECV ID NR 450+467; SECV ID NR 450+468; SECV ID NR 451+463; SECV ID NR 452+463; SECV ID NR 453+463; SECV ID NR 451+468; SECV ID NR 454+469; și SECV ID NR 455+470.

Intr-o altă variantă de realizare, primul domeniu de legare a constructului de anticorp conform invenției cuprinde o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR.: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, și SECV ID NR: 493.

Primele domenii de legare de mai sus (care sunt specificate prin CDR-urile lor, regiunea VH și regiunea VL și combinațiile acestora) se caracterizează ca domenii de legare care se leagă la un epitop DLL3 cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 259.

Un construct de anticorp conform prezentei dezvăluiri poate fi de asemenea definit ca un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare (de preferință uman) care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare se leagă de același epitop al DLL3 ca un anticorp selectat din grupul constând din DLL3-13, DLL3-14 și DLL3-15, *adică* un anticorp care cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR -H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din:

a) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 121, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 122, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 123, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 124, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 125 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 126;

b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

și  
c) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 141, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 142, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 143, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 144, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 145 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 146.

Un construct de anticorp conform prezentei dezvăluiri poate fi de asemenea definit ca un construct de anticorp bispecific care cuprinde un prim domeniu de legare (de preferință uman) care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T, în care primul domeniu de legare concurează pentru legarea cu un anticorp selectat din grupul constând din DLL3-13, DLL3-14 și DLL3-15, *adică* un anticorp care cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR -H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din cele descrise mai sus.

De asemenea, se preconizează că constructul de anticorp conform invenției are, pe lângă funcția sa de a se lega de moleculele țintă DLL3 și CD3, o funcție suplimentară. În acest format, constructul de anticorp este un construct trifuncțional sau multifuncțional al anticorpului prin țintirea celulelor țintă prin legarea la DLL3, medierea activității celulelor T citotoxice prin legarea CD3 și asigurarea unei funcții suplimentare, cum ar fi un domeniu constant Fc complet funcțional care mediază citotoxicitatea celulară dependentă de anticorp prin recrutarea celulelor efectoare, precum celulele NK, o etichetă (fluorescentă etc.), un agent terapeutic, cum ar fi o toxină sau un radionuclid și/sau mijloace de îmbunătățire a timpului de înjumătățire plasmatică etc.

Exemplele de mijloace de extindere a timpului de înjumătățire plasmatică a constructelor anticorpului conform invenției includ peptide, proteine sau domenii ale proteinelor, care sunt fuzionate sau atașate în alt mod la structurile anticorpului. Grupul de peptide, proteine sau domenii de proteine include peptide care se leagă de alte proteine cu profil farmacocinetic preferat în corpul uman, cum ar fi albumina serică (vezi WO 2009/127691). Un concept alternativ al unor astfel de peptide care se prelungesc cu timpul de înjumătățire include peptidele care se leagă la receptorul neonatal Fc (FcRn, vezi WO 2007/098420), care poate fi, de asemenea, utilizat în

construcțiile prezentei invenții. Conceptul de atașare a unor domenii mai mari de proteine sau proteine complete include de ex. fuziunea albuminei serice umane, variante sau mutanți ai albuminei serice umane (vezi WO 2011/051489, WO 2012/059486, WO 2012/150319, WO 2013/135896, WO 2014/072481, WO 2013/075066) sau domenii ale acestora precum și fuziunea regiunii constante a imunoglobulinelor (domenii Fc) și a variantelor acestora. Astfel de variante ale domeniilor Fc pot fi optimizate/modificate pentru a permite asocierea dorită de dimeri sau multimeri, pentru a elimina legarea receptorului Fc (de ex., receptorul Fcγ) sau din alte motive. Un alt concept cunoscut în domeniu pentru a prelungi timpul de înjumătățire al compușilor proteici mici din corpul uman este pegilarea acelor compuși, cum ar fi constructul anticorpului din prezenta invenție.

Intr-o variantă preferată, construcțiile anticorpului bispecific conform invenției pot fi legate (de ex., prin legătura peptidică) cu un partener de fuziune (cum ar fi o proteină sau polipeptidă sau peptidă), de ex. în scopul extinderii timpului de înjumătățire plasmatică al constructului. Acești parteneri de fuziune pot fi selectați dintre albumina serică umană ("HSA" sau "HALB"), precum godeuri ca variante de secvență ale acestora, peptide care se leagă de HSA, peptide care se leagă de FcRn ("FcRn BP") sau construcții care conțin o (derivat din anticorp) regiune Fc. Secvențe exemplare ale acestor parteneri de fuziune sunt descrise în SECV ID NR: 295-341. În general, partenerii de fuziune pot fi legați la capătul N-terminal sau la capătul C-terminal al anticorpilor bispecifici conform invenției, fie direct (de ex., prin legătura peptidică), fie printr-un linker peptidic, cum ar fi (GGGGS)<sub>n</sub> (în care "n" este un număr întreg ca 2 sau mai mare, de ex. 2 sau 3 sau 4). Linkerii peptidici adecvați sunt descriși în SECV ID NR: 285-293.

Prin urmare, un construct de anticorp preferat conform prezentei invenții cuprinde:

(a) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293; și

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434; și

o opțional o etichetă His, cum ar fi cea descrisă în SECV ID NR.: 294;

(b) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293;

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434;

o o polipeptidă linker având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293;

o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 295 și 301-330; și

o opțional o etichetă His, cum ar fi cea descrisă în SECV ID NR.: 294;

(c) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:

- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi QRFVTGHFGGLX<sub>1</sub>PANG (SECV ID NR: 296) în care X<sub>1</sub> este Y sau H; și
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434;
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi QRFVTGHFGGLHPANG (SECV ID NR: 298) sau QRFCTGHFGGLHPCNG (SECV ID NR: 300); și
- o opțional o etichetă His, cum ar fi cea descrisă în SECV ID NR.: 294;
- (d) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
  - o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 348, SECV ID NR: 357, SECV ID NR: 366, SECV ID NR: 375, SECV ID NR: 384, SECV ID NR: 393, SECV ID NR: 402, SECV ID NR: 411, SECV ID NR: 420, SECV ID NR: 429, și SECV ID NR: 432;
  - o o polipeptidă linker având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 292;
  - o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 38, SECV ID NR: 48, SECV ID NR: 58, SECV ID NR: 68, SECV ID NR: 78, SECV ID NR: 88, SECV ID NR: 98, SECV ID NR: 108, SECV ID NR: 118, SECV ID NR: 128, SECV ID NR: 138, SECV ID NR: 148, SECV ID NR: 158, SECV ID NR: 168, SECV ID NR: 436, SECV ID NR: 456, SECV ID NR: 457, SECV ID NR: 458, SECV ID NR: 459, SECV ID NR: 460, SECV ID NR: 461, SECV ID NR: 462, SECV ID NR: 463, SECV ID NR: 464, SECV ID NR: 465, SECV ID NR: 466, SECV ID NR: 467, SECV ID NR: 468, SECV ID NR: 469, SECV ID NR: 470, și SECV ID NR: 530, urmat de un reziduu de serină la capătul C-terminal;
  - o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 331; și
  - o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
    - o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 37, SECV ID NR: 47, SECV ID NR: 57, SECV ID NR: 67, SECV ID NR: 77, SECV ID NR: 87, SECV ID NR: 97, SECV ID NR: 107, SECV ID NR: 117, SECV ID NR: 127, SECV ID NR: 137, SECV ID NR: 147, SECV ID NR: 157, SECV ID NR: 167, SECV ID NR: 435, SECV ID NR: 445, SECV ID NR: 446, SECV ID NR: 447, SECV ID NR: 448, SECV ID NR: 449, SECV ID NR: 450, SECV ID NR: 451, SECV ID NR: 452, SECV ID NR: 453, SECV ID NR: 454, și SECV ID NR: 455, și SECV ID NR: 529;
- o o polipeptidă linker având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 292;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 349, SECV ID NR: 358, SECV ID NR: 367, SECV ID NR: 376, SECV ID NR: 385, SECV ID NR: 394, SECV ID NR: 403, SECV ID NR: 412, SECV ID NR: 421, SECV ID NR: 430, și SECV ID NR: 433 urmat de un reziduu de serină la capătul C-terminal; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 332;
- (e) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
  - o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 348, SECV ID NR: 357, SECV ID NR: 366, SECV ID NR: 375, SECV ID NR: 384, SECV ID NR: 393, SECV ID NR: 402, SECV ID NR: 411, SECV ID NR: 420, SECV ID NR: 429, și SECV ID NR: 432;
  - o o polipeptidă linker având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 292;
  - o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 38, SECV ID NR: 48, SECV ID NR: 58, SECV ID NR: 68, SECV ID NR: 78, SECV ID NR: 88, SECV ID NR: 98, SECV ID NR: 108, SECV ID NR: 118, SECV ID NR: 128, SECV ID NR: 138,

- SECV ID NR: 148, SECV ID NR: 158, SECV ID NR: 168, SECV ID NR: 436, SECV ID NR: 456, SECV ID NR: 457, SECV ID NR: 458, SECV ID NR: 459, SECV ID NR: 460, SECV ID NR: 461, SECV ID NR: 462, SECV ID NR: 463, SECV ID NR: 464, SECV ID NR: 465, SECV ID NR: 466, SECV ID NR: 467, SECV ID NR: 468, SECV ID NR: 469, SECV ID NR: 470, și SECV ID NR: 530; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 333; și
- o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 37, SECV ID NR: 47, SECV ID NR: 57, SECV ID NR: 67, SECV ID NR: 77, SECV ID NR: 87, SECV ID NR: 97, SECV ID NR: 107, SECV ID NR: 117, SECV ID NR: 127, SECV ID NR: 137, SECV ID NR: 147, SECV ID NR: 157, și SECV ID NR: 167, SECV ID NR: 435, SECV ID NR: 445, SECV ID NR: 446, SECV ID NR: 447, SECV ID NR: 448, SECV ID NR: 449, SECV ID NR: 450, SECV ID NR: 451, SECV ID NR: 452, SECV ID NR: 453, SECV ID NR: 454, SECV ID NR: 455, și SECV ID NR: 529;
- o o polipeptidă linker având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 292;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 349, SECV ID NR: 358, SECV ID NR: 367, SECV ID NR: 376, SECV ID NR: 385, SECV ID NR: 394, SECV ID NR: 403, SECV ID NR: 412, SECV ID NR: 421, SECV ID NR: 430, și SECV ID NR: 433 urmat de un reziduu de serină la capătul C-terminal; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 334;
- (f) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434;
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 335; și o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 336;
- (g) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din : 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 337; și
- o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 338;
- (h) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din : 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID

- NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 339; și
- o o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 340; sau
- (i) o polipeptidă cuprinzând în următoarea ordine începând de la capătul N-terminal:
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285-293;
- o o polipeptidă având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434; și
- o o polipeptidă având secvența de aminoacizi descrisă în SECV ID NR: 341.
- De exemplu, un construct preferat de anticorp bispecific conform prezentei invenții cuprinde sau constă dintr-o polipeptidă selectată din grupul constând din cei descriși în: SECV ID NR: 224, SECV ID NR: 225, SECV ID NR: 226, SECV ID NR: 227, SECV ID NR: 228, SECV ID NR: 229, SECV ID NR: 230, SECV ID NR: 231, SECV ID NR: 232, SECV ID NR: 233, SECV ID NR: 234, SECV ID NR: 235, SECV ID NR: 236, SECV ID NR: 237; SECV ID NR: 242, SECV ID NR: 243, SECV ID NR: 244, SECV ID NR: 245, SECV ID NR: 246, SECV ID NR: 247, SECV ID NR: 248, SECV ID NR: 249, SECV ID NR: 250, și SECV ID NR: 251.
- Așa cum s-a descris mai sus, mai multe constructe preferate de anticorpi conform invenției sunt modificate prin fuziune cu un alt fragment, cum ar fi albumina sau variante de albumină. Dacă aceste constructe de fuziune sunt caracterizate pentru proprietățile lor, cum ar fi în special afinitatea lor la țintă sau activitatea citotoxică, persoana calificată va fi conștientă că se poate aștepta ca constructe de fuziune similare sau constructe de anticorpi bispecifici nemodificați să aibă proprietăți similare (sau posibil chiar mai bune). De exemplu, dacă un construct de anticorp bispecific fuzionat cu albumina are o activitate citotoxică apreciabilă sau dorită sau afinitate țintă, se poate aștepta ca aceeași/similară sau chiar o activitate citotoxică/afinitate țintă mai mare să fie observată pentru același construct w/o albumină.
- Conform unei alte variante preferate, constructul de anticorp bispecific conform invenției cuprinde (pe lângă cele două domenii de legare) un al treilea domeniu care cuprinde doi monomeri polipeptidici, fiecare cuprinzând o balama, un domeniu CH2 și un domeniu CH3, în care respectivele două polipeptide (sau monomeri polipeptidici) sunt fuzionați între ei printr-un linker peptidic. De preferință, al treilea domeniu cuprinde într-o ordine N- la C-terminal: balama-CH2-CH3-linker-balama-CH2-CH3. Secvențele de aminoacizi preferate pentru al treilea domeniu menționat sunt descrise în SECV ID NR: 541-548. Fiecare dintre monomerii polipeptidici menționați are, de preferință, o secvență de aminoacizi care este selectată din grupul constând din SECV ID NR: 533-540, sau care este cel puțin 90% identic cu acele secvențe. Într-un alt exemplu de realizare preferat, primul și al doilea domeniu de legare a constructului de anticorp bispecific al invenției sunt fuzionate cu al treilea domeniu printr-un linker peptidic care este, de exemplu, selectat din grupul constând din SECV ID NR.: 285, 286, 288, 289, 290, 292 și 293.
- În conformitate cu prezenta invenție, o "balama" este o regiune de balama IgG. Această regiune poate fi identificată prin analogie folosind numerotarea Kabat, a se vedea pozițiile 223-243 Kabat. În conformitate cu cele de mai sus, cerința minimă pentru o "balama" sunt reziduurile de

aminoacizi corespunzătoare secțiunii de secvență IgG<sub>1</sub> de la D231 la P243 conform numerotării Kabat. Termenii CH2 și CH3 se referă la regiunile constante 2 și 3 ale lanțului greu al imunoglobulinei. Aceste regiuni pot fi, de asemenea, identificate prin analogie folosind numerotarea Kabat, vezi pozițiile Kabat 244-360 pentru CH2 și pozițiile Kabat 361-478 pentru CH3. Se înțelege că există unele variații între imunoglobuline în ceea ce privește regiunea lor IgG<sub>1</sub> Fc, regiunea IgG<sub>2</sub> Fc, regiunea IgG<sub>3</sub> Fc, regiunea IgG<sub>4</sub> Fc, regiunea IgM Fc, regiunea IgA Fc, regiunea IgD Fc și regiunea IgE Fc (vezi, de ex., Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Termenul monomer Fc se referă la ultimele două regiuni constante de lanț greu ale IgA, IgD și IgG și la ultimele trei regiuni constante de lanț greu ale IgE și IgM. Monomerul Fc poate include, de asemenea, balama flexibilă N-terminală la aceste domenii. Pentru IgA și IgM, monomerul Fc poate include lanțul J. Pentru IgG, porțiunea Fc cuprinde domeniile de imunoglobulină CH2 și CH3 și balama între primele două domenii și CH2. Deși limitele porțiunii Fc ale unei imunoglobuline pot varia, poate fi definit un exemplu pentru o porțiune Fc cu lanț greu IgG umană care cuprinde o balama funcțională, domeniul CH2 și CH3, de ex. pentru a cuprinde reziduuri D231 (ale domeniului balama) la P476 (a capătului C-terminal al domeniului CH3), sau D231 la L476, respectiv, pentru IgG<sub>4</sub>, în care numerotarea este conform Kabat.

Constructul de anticorp conform invenției poate cuprinde deci într-o ordine N- la C-terminal:

- (a) primul domeniu de legare;
- (b) un linker peptidic având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 286, 292 și 293;
- (c) al doilea domeniu de legare;
- (d) un linker peptidic având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 285, 286, 288, 289, 290, 292 și 293;
- (e) primul monomer polipeptidic din al treilea domeniu (cuprinzând o balama, un domeniu CH2 și un domeniu CH3);
- (f) un linker peptidic având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 550, 551, 552 și 553; și
- (g) al doilea monomer polipeptidic din al treilea domeniu (cuprinzând o balama, un domeniu CH2 și un domeniu CH3);

De asemenea, este de preferat ca constructul anticorpului conform invenției să cuprindă în ordine N- la C-terminal:

- primul domeniu de legare având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 437, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, SECV ID NR: 493, și SECV ID NR: 531;
- o peptidă linker având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NRs: 286, 292 și 293;
- al doilea domeniu de legare având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 350, SECV ID NR: 359, SECV ID NR: 368, SECV ID NR: 377, SECV ID NR: 386, SECV ID NR: 395, SECV ID NR: 404, SECV ID NR: 413, SECV ID NR: 422, SECV ID NR: 431, și SECV ID NR: 434;
- o peptidă linker având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NRs: 285, 286, 288, 289, 290, 292 și 293; și
- al treilea domeniu având o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NRs: 541-548.

Prin urmare, într-un exemplu de realizare preferat, constructul anticorpului conform prezentei invenții cuprinde sau constă dintr-o polipeptidă selectată din cele descrise în SECV ID NR: 517, SECV ID NR: 518, SECV ID NR: 519, SECV ID NR: 520, SECV ID NR: 521, SECV ID NR: 522, SECV ID NR: 523, SECV ID NR: 524, SECV ID NR: 525, SECV ID NR: 526, SECV ID NR: 527, și SECV ID NR: 528.

Tabelul de secvențe (Tabelul 18) oferă, de asemenea, variații de secvență ale lianților denumiți DLL3-4 și DLL3-14. Mutațiile punctuale care au fost inserate în aceste variante de secvență sunt identificate în funcție de poziția acestei mutații în cadrul moleculei scFv respective. Se înțelege că este posibilă și o modalitate alternativă de identificare a acestor poziții, în funcție de

polipeptida de referință, care ar putea fi la fel de bine regiunea CDR sau regiunea VH/VL. De exemplu, varianta denumită DLL3-4-001 are o dublă mutație G44C-G243C în molecula sa scFv (SECV ID NR.: 437). Aceasta se traduce printr-o mutație G44C în lanțul VH corespunzător (SECV ID NR.: 435) și o mutație G101C în lanțul VL corespunzător (SECV ID NR.: 436).

Modificările covalente ale constructelor anticorpului sunt, de asemenea, incluse în scopul acestei invenții și, în general, dar nu întotdeauna, sunt realizate post-translațional. De exemplu, mai multe tipuri de modificări covalente ale constructului anticorpului sunt introduse în moleculă prin reacția resturilor specifice de aminoacizi ale constructului anticorpului cu un agent organic de derivatizare care este capabil să reacționeze cu lanțurile laterale selectate sau cu resturile N- sau C-terminale.

Reziduurile de cisteinil reacționează cel mai frecvent cu  $\alpha$ -haloacetați (și aminele corespunzătoare), cum ar fi acidul cloracetic sau cloracetamida, pentru a da derivați carboximetil sau carboxiamidometil. Reziduurile de cisteinil sunt, de asemenea, derivate prin reacție cu bromotrifluoroacetonă, acid  $\alpha$ -bromo- $\beta$ - (5-imidozolil) propionic, fosfat de cloracetil, N-alchilmaleimide, 3-nitro-2-piridil disulfură, 2-piridil disulfură de metil, p-cloromercuribenzoat, 2-cloromercuri-4-nitrofenol sau cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol.

Reziduurile de histidil sunt derivatizate prin reacție cu dietilpirocarbonat la pH 5,5-7,0 deoarece acest agent este relativ specific pentru lanțul lateral al histidilului. Bromura de parabromfenacil este de asemenea utilă; reacția se efectuează de preferință în cacodilat de sodiu 0,1 M la pH 6,0. Reziduurile de lizinil și amino terminale reacționează cu anhidridele acidului succinic sau cu alți carboxilici. Derivatizarea cu acești agenți are ca efect inversarea sarcinii reziduurilor de lizinil. Alți reactivi adecvați pentru derivatizarea reziduurilor care conțin alfa-amino includ imidoesteri precum metil picolinimidat; fosfat de piridoxal; piridoxal; cloroborohidruță; acid trinitrobenzensulfonic; O-metilizourea; 2,4-pentandionă; și reacție catalizată de transaminază cu glioxilat.

Reziduurile de arginil sunt modificate prin reacția cu unul sau mai mulți reactivi convenționali, printre care fenilglioxal, 2,3-butandionă, 1,2-ciclohexandionă și ninhidrină. Derivatizarea reziduurilor de arginină necesită ca reacția să fie efectuată în condiții alcaline din cauza pKa ridicat al grupării funcționale a guanidinei. Mai mult, acești reactivi pot reacționa cu grupările de lizină, precum și cu grupa epsilon-amino a argininei.

Modificarea specifică a reziduurilor de tirozil poate fi făcută, cu un interes deosebit în introducerea etichetelor spectrale în reziduurile de tirozil prin reacție cu compuși aromatici de diazoniu sau tetranitrometan. Cel mai frecvent, N-acetilimidazolul și tetranitrometanul sunt utilizate pentru a forma specii de, respectiv, derivați 3-nitro. Reziduurile de tirozil sunt iodate folosind  $^{125}\text{I}$  sau  $^{131}\text{I}$  pentru a prepara proteine marcate pentru utilizare în radioimunoteste, metoda T cu cloramină descrisă mai sus fiind adecvată.

Grupările laterale carboxil (aspartil sau glutamil) sunt modificate selectiv prin reacția cu carbodiimide ( $\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N--R}'$ ), în care R și R' sunt opțional grupări alchil diferite, cum ar fi 1-ciclohexil-3- (2-morfolinil-4-etil) carbodiimidă sau 1-etil-3- (4-azonia-4,4-dimetilpentil) carbodiimidă. Mai mult, resturile de aspartil și glutamil sunt transformate în resturi de asparaginil și glutaminil prin reacție cu ioni de amoniu.

Derivatizarea cu agenți bifuncționali este utilă pentru reticularea constructelor de anticorpi conform prezentei invenții la o matrice de suport sau suprafață insolubilă în apă pentru utilizare într-o varietate de metode. Agenții de reticulare utilizați în mod obișnuit includ, de ex., 1,1-bis (diazooacetil)-2-feniletan, glutaraldehidă, esteri N-hidroxisuccinimidici, de exemplu, esteri cu acid 4-azidosalicilic, imidoesteri homobifuncționali, inclusiv esteri disuccinimidilici precum 3,3'-ditiobis (succinimidilpropionat) și maleimide bifuncționale precum bis-N-maleimido-1,8-octan. Agenți de derivare cum ar fi metil-3 -[(p-azidofenil) ditio] propioimidat produc intermediari fotoactivabili care sunt capabili să formeze legături încrucișate în prezența luminii. Alternativ, matrici reactive insolubile în apă, cum ar fi carbohidrați activați cu bromură de cianogen și substraturi reactive, așa cum este descris în brevetul US nr. Nr. 3.969.287; 3.691.016; 4.195.128; 4.247.642; 4.229.537; și 4.330.440 sunt utilizați pentru imobilizarea proteinelor.

Reziduurile de glutaminil și asparaginil sunt frecvent deamidate la reziduurile de glutamil și respectiv, aspartil. Alternativ, aceste reziduuri sunt deamidate în condiții ușor acide. Oricare dintre aceste reziduuri se încadrează în scopul acestei invenții.

Alte modificări includ hidroxilarea prolinei și lizinei, fosforilarea grupărilor hidroxil ale reziduurilor seril sau treonil, metilarea grupărilor  $\alpha$ -amino ale lizinei, argininei și histidinei lanțurilor laterale (T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), acetilarea aminei N-terminale și amidarea oricărei grupări carboxil C-terminale.

Un alt tip de modificare covalentă a constructelor anticorpului inclus în scopul acestei invenții cuprinde modificarea modelului de glicozilare a proteinei. După cum se știe în domeniu, modelele de glicozilare pot depinde atât de secvența proteinei (de ex., de prezența sau absența unor resturi de aminoacizi de glicozilare particulare, discutate mai jos), fie de celula gazdă sau organismul în care este produsă proteina. Sistemele de expresie particulare sunt discutate mai jos.

Glicozilarea polipeptidelor este de obicei fie N-legată, fie O-legată. N-legat se referă la atașarea fragmentului carbohidrat la lanțul lateral al unui reziduu de asparagină. Secvențele tri-peptidice asparagină-X-serină și asparagină-X-treonină, în care X este orice aminoacid cu excepția prolinei, sunt secvențele de recunoaștere pentru atașarea enzimatică a fragmentului carbohidrat la lanțul lateral al asparaginei. Astfel, prezența oricăreia dintre aceste secvențe tri-peptidice într-o polipeptidă creează un potențial situs de glicozilare. Glicozilarea O-legată se referă la atașarea unuia dintre zaharurile N-acetilgalactozamină, galactoză sau xiloză, la un hidroxiaminoacid, cel mai frecvent serină sau treonină, deși pot fi utilizate și 5-hidroxiprolină sau 5-hidroxilizină.

Adăugarea situsurilor de glicozilare la constructul anticorpului se realizează în mod convenabil prin modificarea secvenței de aminoacizi astfel încât să conțină una sau mai multe dintre secvențele tri-peptidice descrise mai sus (pentru situsurile de glicozilare N-legate). Modificarea poate fi făcută, de asemenea, prin adăugarea sau substituirea cu unul sau mai multe reziduuri de serină sau treonină la secvența de pornire (pentru locurile de glicozilare legate de O). Pentru ușurință, secvența de aminoacizi a unui construct de anticorpi este modificată, de preferință, prin modificări la nivelul ADN-ului, în special prin mutarea ADN-ului care codifică polipeptida la baze preselecționate astfel încât să se genereze codoni care se vor traduce în aminoacizii doriți.

Un alt mijloc de creștere a numărului de fragmente de carbohidrați pe structura anticorpului este prin cuplarea chimică sau enzimatică a glicozidelor cu proteina. Aceste proceduri sunt avantajoase prin faptul că nu necesită producerea de proteine într-o celulă gazdă care are capacitatea de glicozilare pentru glicozilare legată de N- și O-. În funcție de modul de cuplare utilizat, zaharul (zaharuri) poate fi atașat la (a) arginină și histidină, (b) grupări carboxil libere, (c) grupări sulfhidril libere precum cele ale cisteinei, (d) grupări hidroxil libere precum cele ale serinei, treoninei sau hidroxiprolinei, (e) reziduuri aromatice precum cele ale fenilalaninei, tirozinei sau triptofanului sau (f) grupului amidic al glutaminei. Aceste metode sunt descrise în WO 87/05330 și în Aplin și Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., Pp. 259-306.

Îndepărtarea fracțiunilor de carbohidrați prezente pe constructul anticorpului inițial poate fi realizată chimic sau enzimatic. Deglicozilarea chimică necesită expunerea proteinei la compusul acid trifluormetansulfonic sau la un compus echivalent. Acest tratament are ca rezultat scindarea majorității sau a tuturor zaharurilor, cu excepția zaharului care leagă (N-acetilglucozamina sau N-acetilgalactozamina), lăsând polipeptida intactă. Deglicozilarea chimică este descrisă de Hakimuddin și colab., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 și de Edge și colab., 1981, Anal. Biochem. 118:131. Scindarea enzimatică a fragmentelor de carbohidrați pe polipeptide poate fi realizată prin utilizarea unei varietăți de endo- și exo-glicozidaze, așa cum este descris de Thotakura și colab., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. Glicozilarea la potențialele locuri de glicozilare poate fi prevenită prin utilizarea compusului tunicamicină așa cum este descris de Duskin și colab., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Tunicamicina blochează formarea legăturilor proteină-N-glicozidă.

Alte modificări ale constructului anticorpului sunt, de asemenea, avute în vedere aici. De exemplu, un alt tip de modificare covalentă a constructului anticorpului cuprinde legarea constructului anticorpului la diferiți polimeri neproteici, incluzând, dar fără a se limita la, diferiți polioli precum polietilenglicol, polipropilenglicol, polioxialchileni sau copolimeri de polietilenglicol și polipropilenglicol, în modul stabilit în brevetele US nr. 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 sau 4.179.337. În plus, așa cum se știe în domeniu, substituțiile de aminoacizi pot fi făcute în diferite poziții în cadrul constructului anticorpului, de ex. pentru a facilita adăugarea de polimeri precum PEG.

În unele variante de realizare, modificarea covalentă a constructelor anticorpului conform invenției cuprinde adăugarea uneia sau mai multor etichete. Grupul de marcăre poate fi cuplat la constructul anticorpului prin intermediul brațelor distanțatoare de diferite lungimi pentru a reduce potențialul obstacol steric. Diferite metode pentru marcarea proteinelor sunt cunoscute în domeniu și pot fi utilizate în realizarea prezentei invenții. Termenul „etichetă” sau „grup de etichetare” se referă la orice etichetă detectabilă. În general, etichetele se încadrează într-o varietate de clase, în funcție de testul în care urmează să fie detectate - următoarele exemple includ, dar nu se limitează la:

- a) etichete izotopice, care pot fi izotopi radioactivi sau grei, precum radioizotopi sau radionuclizi (de ex.,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ )
- b) etichete magnetice (de ex., particule magnetice)

c) fragmente active redox

d) coloranți optici (incluzând, dar nelimitându-se la, cromofori, fosfor și fluorofori), cum ar fi grupări fluorescente (*de ex.*, FITC, rodamină, fosfor lantanid), grupuri chemioluminescente și fluorofori care pot fi fie fluoruri cu „moleculă mică”, fie fluoruri proteinacee

5 e) grupări enzimatică (*de ex.*, peroxidază de hrean,  $\beta$ -galactozidază, luciferază, fosfatază alcalină)

f) grupări biotinilate

g) epitopi polipeptidici predeterminați recunoscuți de un reporter secundar (*de ex.*, secvențe pereche cu fermoar de leucină, situsuri de legare pentru anticorpi secundari, domenii de legare a metalelor, etichete de epitop etc.)

10 Prin "etichetă fluorescentă" se înțelege orice moleculă care poate fi detectată *prin* proprietățile sale fluorescente inerente. Etichetele fluorescente adecvate includ, dar nu se limitează la, fluoresceină, rodamină, tetrametilrodamină, cozină, eritrozină, cumarină, metil-cumarine, piren, verde malachit, stilben, galben licurici, Cascade BlueJ, Texas Red, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, verde Oregon, coloranți Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633,

15 Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Cascade Blue, Cascade Yellow și R-ficoeritrină (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, Rhodamine, și Texas Red (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Coloranții optici adecvați, inclusiv fluoroforii, sunt descriși în Molecular Probes Handbook by Richard P. Haugland.

20 Etichetele fluorescente proteice adecvate includ, de asemenea, dar nu sunt limitate la, proteine fluorescente verzi, inclusiv Renilla, Ptilosarcus, sau specii Aequorea ale GFP (Chalfie et al., 1994, Science 263:802-805), EGFP (Clontech Laboratories, Inc., Genbank Accession Number U55762), proteina albastru fluorescent (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de  
25 Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24:462-471; Heim și colab., 1996, Curr. Biol. 6:178-182), proteină fluorescentă galbenă îmbunătățită (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), luciferază (Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150:5408-5417),  $\beta$  galactozidază (Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A. 85:2603-2607) și Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, brevete U.S. Nr. 5.292.658; 5.418.155; 5.683.888; 5.741.668; 5.777.079; 5.804.387; 5.874.304; 5.876.995; 5.925.558).

30 Domeniile fermoarului de leucină sunt peptide care promovează oligomerizarea proteinelor în care se găsesc. Fermoarele de leucină au fost identificate inițial în mai multe proteine care leagă ADN-ul (Landschulz și colab., 1988, Science 240: 1759) și de atunci au fost  
35 găsite într-o varietate de proteine diferite. Printre fermoarele de leucină cunoscute se numără peptidele naturale și derivații acestora care dimerizează sau trimerizează. Exemple de domenii cu fermoar de leucină adecvate pentru producerea de proteine oligomerice solubile sunt descrise în cererea PCT WO 94/10308 și fermoarul de leucină derivat din proteina surfactant pulmonar D (SPD) descris în Hoppe și colab., 1994, FEBS Letters 344: 191. Utilizarea unui fermoar de leucină  
40 modificat care permite trimerizarea stabilă a unei proteine heteroloage fuzionate la aceasta este descrisă în Fanslow și colab., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. Într-o abordare, proteinele de fuziune recombinante care cuprind un fragment de anticorp DLL3 sau un derivat fuzionat la o peptidă cu fermoar de leucină sunt exprimate în celule gazdă adecvate, iar fragmentele sau derivații oligomerici de anticorp DLL3 sau derivații care se formează sunt recuperați din  
45 supernatantul de cultură.

Constructul anticorpului conform invenției poate cuprinde, de asemenea, domenii suplimentare, care sunt de ex. utile la izolarea moleculei sau se referă la un profil farmacocinetic adaptat al moleculei. Domeniile utile pentru izolarea unui construct de anticorp pot fi selectate  
50 dintre motivele peptidice sau fragmentele introduse secundar, care pot fi capturate într-o metodă de izolare, de ex. o coloană de izolare. Exemplele nelimitative ale unor astfel de domenii suplimentare cuprind motive peptidice cunoscute sub numele de Myc-tag, HAT-tag, HA-tag, TAP-tag, GST-tag, domeniul de legare a chitinei (eticheta CBD), proteina de legare a maltozei (eticheta MBP), eticheta Flag, eticheta Strep și variantele acestora (de exemplu, eticheta Strepll) și eticheta His. Toate constructele de anticorp descrise aici caracterizate prin CDR-urile identificate sunt  
55 preferate să cuprindă un domeniu cu etichetă His, care este în general cunoscut ca o repetare a reziduurilor His consecutive în secvența de aminoacizi a unei molecule, de preferință de cinci, și mai preferabil de șase reziduuri His (hexa-histidină). Eticheta His poate fi localizată de ex. la capătul N- sau C-terminal al constructului anticorpului, de preferință este situat la capătul C-terminal. Cel mai preferabil, o etichetă hexa-histidină (HHHHHH) este legată printr-o legătură  
60 peptidică la capătul C-terminal al constructului anticorpului conform invenției.

Primul domeniu de legare al constructului anticorpului conform prezentei invenții se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă în regiune așa cum este definită în revendicări. Secvența de aminoacizi preferată a DLL3 umană este reprezentată de SECV ID NR: 252. Se înțelege că termenul "la suprafață", în contextul prezentei invenții, înseamnă că domeniul de legare se leagă specific de un epitop cuprins în domeniul extracelular DLL3 (DLL3 ECD). Primul domeniu de legare conform invenției, prin urmare, se leagă de preferință la DLL3 atunci când este exprimat prin exprimarea naturală a celulelor sau liniilor celulare și/sau prin celule sau linii celulare transformate sau (stabil/tranzitor) transfectate cu DLL3. Într-o realizare preferată, primul domeniu de legare se leagă de asemenea de DLL3 atunci când DLL3 este utilizat ca moleculă "țintă" sau "ligand" într-un test de legare *in vitro* cum ar fi BIAcore sau Scatchard. "Celula țintă" poate fi orice celulă procariotă sau eucariotă care exprimă DLL3 pe suprafața sa; de preferință, celula țintă este o celulă care face parte din corpul uman sau animal, cum ar fi o DLL3 specifică care exprimă cancer sau celula tumorală.

Termenul "DLL3 ECD" se referă la o formă de DLL3 care este în esență lipsită de domenii transmembranare și citoplasmice ale DLL3. Se va înțelege de către specialiștii în domeniu că domeniul transmembranar identificat pentru polipeptida DLL3 din prezenta invenție este identificat în conformitate cu criteriile utilizate în mod obișnuit în domeniu pentru identificarea aceluși tip de domeniu hidrofob. Limitele exacte ale unui domeniu transmembranar pot varia, dar cel mai probabil nu mai mult de aproximativ 5 aminoacizi la ambele capete ale domeniului specificat aici. Un DLL3 ECD uman preferat este arătat în SECV ID NR: 253.

Afinitatea primului domeniu de legare pentru DLL3 uman este de preferință  $\leq 20$  nM, mai preferabil  $\leq 10$  nM, chiar mai preferabil  $\leq 5$  nM, chiar mai preferabil  $\leq 2$  nM, chiar mai preferabil  $\leq 1$  nM, chiar mai preferabil  $\leq 0.6$  nM, chiar mai preferabil  $\leq 0.5$  nM și cel mai preferabil  $\leq 0.4$  nM. Afinitatea poate fi măsurată de exemplu într-un test BIAcore sau într-un test Scatchard, *de ex.* așa cum este descris în Exemple. Alte metode de determinare a afinității sunt, de asemenea, bine cunoscute persoanei calificate.

Celulele T sau limfocitele T sunt un tip de limfocit (el însuși un tip de celule albe din sânge) care joacă un rol central în imunitatea mediată de celule. Există mai multe subseturi de celule T, fiecare cu o funcție distinctă. Celulele T se pot distinge de alte limfocite, cum ar fi celulele B și celulele NK, prin prezența unui receptor de celule T (TCR) pe suprafața celulei. TCR este responsabil pentru recunoașterea antigenilor legați de moleculele complexului de histocompatibilitate majoră (MHC) și este compus din două lanțuri de proteine diferite. În 95% din celulele T, TCR constă dintr-un lanț alfa ( $\alpha$ ) și beta ( $\beta$ ). Când TCR se angajează cu peptida antigenică și MHC (complexul peptidă/MHC), limfocitul T este activat printr-o serie de evenimente biochimice mediate de enzime asociate, co-receptori, molecule adaptore specializate și factori de transcripție activați sau eliberați.

Complexul receptorului CD3 este un complex proteic și este compus din patru lanțuri. La mamifere, complexul conține un lanț CD3 $\gamma$  (gamma), un lanț CD3 $\delta$  (delta) și două lanțuri CD3 $\epsilon$  (epsilon). Aceste lanțuri se asociază cu receptorul de celule T (TCR) și așa-numitul lanț  $\zeta$  (zeta) pentru a forma complexul CD3 al receptorului de celule T și pentru a genera un semnal de activare în limfocitele T. Lanțurile CD3 $\gamma$  (gamma), CD3 $\delta$  (delta) și CD3 $\epsilon$  (epsilon) sunt proteine de suprafață celulară foarte înrudite ale superfamiliei imunoglobulinei conținând un singur domeniu de imunoglobulină extracelulară. Cozile intracelulare ale moleculelor CD3 conțin un singur motiv conservat cunoscut sub numele de motiv de activare pe bază de tirozină imunoreceptoare sau ITAM pe scurt, care este esențial pentru capacitatea de semnalizare a TCR. Molecula epsilon CD3 este o polipeptidă care la om este codificată de gena CD3E care se află pe cromozomul 11. Cel mai preferat epitop al CD3 epsilon este cuprins în resturile de aminoacizi 1-27 din domeniul extracelular CD3 epsilon uman.

Liza redirectionată a celulelor țintă prin recrutarea celulelor T de către un construct multispecific, cel puțin bispecific de anticorp implică formarea sinapselor citolitice și livrarea de perforină și granzime. Celulele T angajate sunt capabile de liză a celulelor țintă seriale și nu sunt afectate de mecanismele de evacuare imunitară care interferează cu procesarea și prezentarea antigenului peptidic sau cu diferențierea clonală a celulelor T; vezi, de exemplu, WO 2007/042261.

Citotoxicitatea mediată de structurile de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 poate fi măsurată în diferite moduri. Vezi Exemplele 8.1 până la 8.7. Celulele efectoare pot fi de ex. celule T CD8 pozitive stimulate îmbogățite (umane) sau celule mononucleare (umane) din sânge periferic nestimulat (uman) (PBMC). Dacă celulele țintă sunt de origine de macac sau sunt expres sau sunt transfectate cu DLL3 de macac, celulele efectoare ar trebui să fie, de asemenea, de origine de macac, cum ar fi o linie de celule T de macac, de ex. 4119LnPx. Celulele țintă trebuie să exprime (cel puțin domeniul extracelular al) DLL3, de ex. DLL3 uman sau macac. Celulele țintă pot fi o

linie celulară (cum ar fi CHO) care este transfectată stabil sau tranzitor cu DLL3, de ex. DLL3 uman sau de macac. Alternativ, celulele țintă pot fi o linie celulară expresoare natural pozitivă DLL3, cum ar fi linia celulară de carcinom pulmonar uman SHP-77. De obicei, valorile EC<sub>50</sub> sunt de așteptat să fie mai mici cu liniile celulare țintă care exprimă niveluri mai ridicate de DLL3 pe suprafața celulei. Raportul efector la celulă țintă (E:T) este de obicei aproximativ 10:1, dar poate varia, de asemenea. Activitatea citotoxică a constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 poate fi măsurată într-un test de eliberare în crom 51 (timp de incubație de aproximativ 18 ore) sau într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS (timp de incubație de aproximativ 48 de ore). Modificări ale timpului de incubație a testului (reacție citotoxică) sunt, de asemenea, posibile. Alte metode de măsurare a citotoxicității sunt bine cunoscute persoanei calificate și cuprind teste MTT sau MTS, teste bazate pe ATP, inclusiv teste bioluminescente, testul de sulforodamină B (SRB), testul WST, testul clonogen și tehnologia ECIS.

Activitatea citotoxică mediată de constructele de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 conform prezentei invenții este de preferință măsurată într-un test de citotoxicitate pe bază de celule. Poate fi, de asemenea, măsurată printr-un test de eliberare a crom 51. Este reprezentată de valoarea EC<sub>50</sub>, care corespunde concentrației maxime la jumătate efective (concentrația constructului anticorpului care induce un răspuns citotoxic la jumătatea distanței dintre linia de bază și maxim). Preferabil, valoarea EC<sub>50</sub> a constructelor de anticorp bispecifice DLL3xCD3 este  $\leq 5000$  pM sau  $\leq 4000$  pM, mai preferabil  $\leq 3000$  pM sau  $\leq 2000$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 1000$  pM sau  $\leq 500$  pM, chiar mult mai preferabil  $\leq 400$  pM sau  $\leq 300$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 200$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 100$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 50$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 20$  pM sau  $\leq 10$  pM, și cel mai preferabil  $\leq 5$  pM.

Valorile EC<sub>50</sub> date mai sus pot fi măsurate în diferite teste. Persoana calificată este conștientă că se poate aștepta ca o valoare EC<sub>50</sub> să fie mai mică atunci când celulele T CD8+ stimulate/îmbogățite sunt utilizate ca celule efectoare, comparativ cu PBMC nestimulat. De asemenea, se poate aștepta ca valorile EC<sub>50</sub> să fie mai mici atunci când celulele țintă exprimă un număr mare de antigen țintă comparativ cu o țintă de șobolan cu expresie scăzută. De exemplu, atunci când celulele T CD8+ umane stimulate/îmbogățite sunt utilizate ca celule efectoare (și celulele SHP-77 cu carcinom pulmonar uman pozitiv DLL3 sunt folosite ca celule țintă), valoarea EC<sub>50</sub> a constructului de anticorp bispecific DLL3 xCD3 este preferabil  $\leq 1000$  pM, mai preferabil  $\leq 500$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 250$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 100$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 50$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 10$  pM, și cel mai preferabil  $\leq 5$  pM. Când PBMC umane sunt utilizate ca celule efectoare, valoarea EC<sub>50</sub> a DLL3xCD3 a constructului de anticorp bispecific este preferabil  $\leq 5000$  pM sau  $\leq 4000$  pM (în particular când celulele țintă sunt o linie de celule SHP-77 de carcinom pulmonar uman pozitive DLL3), mai preferabil  $\leq 2000$  pM (în particular când celulele țintă sunt DLL3 transfectate ca celule CHO), mai preferabil  $\leq 1000$  pM sau  $\leq 500$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 200$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 150$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 100$  pM, și cel mai preferabil  $\leq 50$  pM, sau mai puțin. Când o linie de celule T de macac precum LnPx4119 este utilizată ca celule efectoare, și o linie de celule transfectate DLL3 de macac ca celule CHO este utilizată ca linie de celule țintă, valoarea EC<sub>50</sub> a constructului de anticorp bispecific DLL3 xCD3 este preferabil  $\leq 2000$  pM sau  $\leq 1500$  pM, mai preferabil  $\leq 1000$  pM sau  $\leq 500$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 300$  pM sau  $\leq 250$  pM, chiar mai preferabil  $\leq 100$  pM, și cel mai preferabil  $\leq 50$  pM.

De preferință, constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform prezentei invenții nu induc/mediază liza sau nu induc în mod esențial/mediază liza celulelor DLL3 negative, cum ar fi celulele CHO. Termenul "nu induc liza", "nu induc în mod esențial liza", "nu mediază liza" sau "nu mediază în mod esențial liza" înseamnă că un construct de anticorp conform prezentei invenții nu induce sau nu mediază liza mai mult de 30 %, de preferință nu mai mult de 20%, mai preferabil nu mai mult de 10%, în special preferabil nu mai mult de 9%, 8%, 7%, 6% sau 5% din celulele DLL3 negative, prin care liza unui carcinom uman pulmonar DLL3 pozitiv în linia celulară SHP-77 (vezi mai sus) este setată să fie 100%. Acest lucru se aplică de obicei pentru concentrațiile de anticorp de până la 500 nM. Persoana calificată știe cum să măsoare liza celulară fără alte întrebări. Mai mult, prezenta specificație dă instrucțiuni specifice cum se măsoară liza celulară.

Diferența de activitate citotoxică între izoforma monomerică și dimerică a constructelor individuale de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 este denumită „decalaj de potență”. Acest decalaj de potență poate de ex. să fie calculat ca raport între valorile EC<sub>50</sub> ale formei monomerice și dimerice a moleculei, vezi Exemplul 15. Lacunele de potență ale constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform prezentei invenții sunt de preferință  $\leq 5$ , mai preferabil  $\leq 4$ , chiar mai preferabil  $\leq 3$ , chiar mai preferabil  $\leq 2$  și cel mai preferabil  $\leq 1$ .

Primul domeniu de legare al constructului anticorpului conform invenției este, de preferință, specii încrucișate specifice pentru membrii ordinului mamiferelor primatelor. Domeniile de legare CD3 specifice speciilor încrucișate sunt, de exemplu, descrise în WO

2008/119567. Conform unei variante de realizare, primul domeniu de legare, pe lângă legarea la DLL3 uman, se va lega și de DLL3 a primatelor, incluzând (dar fără a se limita la) noi primatate în lume (cum ar fi *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* sau *Saimiri sciureus*), primatele lumii vechi (cum ar fi babuini și macaci), gibbonii, orangutani și *homininae* neumane. Se preconizează că primul domeniu de legare al constructului anticorpului conform invenției care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă se leagă, de asemenea, cel puțin de DLL3 de macac. Al doilea domeniu de legare a constructului anticorpului conform invenției care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T se leagă și de CD3 de macac. Un macac preferat este *Macaca fascicularis*. *Macaca mulatta* (Rhesus) este, de asemenea, prevăzută. Domeniile de legare CD3 specifice speciilor încrucișate sunt, de exemplu, descrise în WO 2008/119567. De asemenea, orice domeniu (domenii) de legare suplimentară a constructului anticorpului conform invenției este/sunt, de preferință, specii încrucișate specifice pentru membrii din ordinul mamiferelor primatelor. Constructul de anticorp bispecific conform invenției cuprinde un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac, în care primul domeniu de legare se leagă la un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260 conform definițiilor din revendicări.

Intr-un aspect al invenției, primul domeniu de legare se leagă de DLL3 uman și se leagă în continuare de DLL3 de macac, cum ar fi DLL3 din *Macaca fascicularis* și, mai preferabil, de DLL3 ECD de macac. Un DLL3 preferat de *Macaca fascicularis* este descris în SECV ID NR: 271. Un DLL3 ECD preferat de macac este descris în SECV ID NR: 272. Afinitatea primului domeniu de legare pentru DLL3 de macac este preferabil  $\leq 15$  nM, mai preferabil  $\leq 10$  nM, even mai preferabil  $\leq 5$  nM, even mai preferabil  $\leq 1$  nM, even mai preferabil  $\leq 0,5$  nM, even mai preferabil  $\leq 0,1$  nM, și cel mai preferabil  $\leq 0,05$  nM sau chiar  $\leq 0,01$  nM.

Preferabil golul de afinitate al constructelor de anticorp conform invenției pentru legarea DLL3 de macac față de DLL3 uman [ma DLL3:hu DLL3] (determinat de ex. prin BiaCore sau prin analiză Scatchard) este între 0,1 și 10, mai preferabil între 0,2 și 5, chiar mai preferabil între 0,3 și 4, chiar mai preferabil între 0,5 și 3 sau între 0,5 și 2,5, și cel mai preferabil între 0,5 și 2 sau între 0,6 și 2. Vezi Exemplele 3 și 4.

Intr-o variantă de realizare a constructului anticorpului conform invenției, al doilea domeniu de legare se leagă de epsilon CD3 uman și de epsilon CD3 de *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* sau *Saimiri sciureus*. De preferință, al doilea domeniu de legare se leagă de un epitop extracelular al acestor lanțuri epsilon CD3. De asemenea, se preconizează că al doilea domeniu de legare se leagă de un epitop extracelular al lanțului epsilon CD3 uman și *Macaca*. Cel mai preferat epitop al CD3 epsilon este cuprins în resturile de aminoacizi 1-27 din domeniul extracelular CD3 epsilon uman. Chiar mai specific, epitopul cuprinde cel puțin secvența de aminoacizi Gln-Asp-Gly-Asn-Glu. *Callithrix jacchus* și *Saguinus oedipus* sunt ambii primatate de lumea nouă aparținând familiei *Callitrichidae*, în timp ce *Saimiri sciureus* este un primat de lumea nouă aparținând familiei *Cebidae*.

Este preferat în special pentru constructul anticorpului din prezenta invenție ca al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman și CD3 de macac de pe suprafața unei celule T cuprinde o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate dintre:

(a) CDR-L1 descris în SECV ID NR. 27 din WO 2008/119567, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 28 din WO 2008/119567 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 29 din WO 2008/119567;

(b) CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 117 din WO 2008/119567, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 118 din WO 2008/119567 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 119 din WO 2008/119567; și

(c) CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 153 din WO 2008/119567, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 154 din WO 2008/119567 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 155 din WO 2008/119567,

Intr-o variantă preferată alternativă a constructului anticorpului din prezenta invenție, al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 selectat dintre:

(a) CDR-H1 descris în SECV ID NR. 12 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 13 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 14 din WO 2008/119567;

(b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 30 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 31 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 32 din WO 2008/119567;

- (c) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 48 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 49 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 50 din WO 2008/119567;
- 5 (d) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 66 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 67 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 68 din WO 2008/119567;
- (e) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 84 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 85 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 86 din WO 2008/119567;
- 10 (f) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 102 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 103 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 104 din WO 2008/119567;
- (g) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 120 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 121 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 122 din WO 2008/119567;
- 15 (h) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 138 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 139 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 140 din WO 2008/119567;
- (i) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 156 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 157 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 158 din WO 2008/119567; și
- 20 (j) CDR-H1 cum s-a descris in SECV ID NR: 174 din WO 2008/119567, CDR-H2 cum s-a descris in SECV ID NR: 175 din WO 2008/119567 și CDR-H3 cum s-a descris in SECV ID NR: 176 din WO 2008/119567,
- 25 De asemenea, este preferat pentru constructul anticorpului prezentei invenții ca al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman de pe suprafața unei celule T și CD3 de macac cuprinde o regiune VL selectată din grupul constând dintr-o regiune VL așa cum este descrisă în SECV ID NR: 35, 39, 125, 129, 161 sau 165 din WO 2008/119567.
- Se preferă alternativ ca al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac cuprinde o regiune VH selectată din grupul constând dintr-o regiune VH așa cum este descris în SECV ID NR.: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 sau 181 din WO 2008/119567.
- Mai preferabil, constructul anticorpului din prezenta invenție este caracterizat prin al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac cuprinzând o regiune VL și o regiune VH selectată din grupul constând din:
- 35 (a) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 17 sau 21 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 15 sau 19 din WO 2008/119567;
- (b) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 35 sau 39 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 33 sau 37 din WO 2008/119567;
- 40 (c) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 53 sau 57 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 51 sau 55 din WO 2008/119567;
- (d) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 71 sau 75 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 69 sau 73 din WO 2008/119567;
- (e) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 89 sau 93 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 87 sau 91 din WO 2008/119567;
- 45 (f) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 107 sau 111 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 105 sau 109 din WO 2008/119567;
- (g) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 125 sau 129 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 123 sau 127 din WO 2008/119567;
- 50 (h) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 143 sau 147 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 141 sau 145 din WO 2008/119567;
- (i) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 161 sau 165 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 159 sau 163 din WO 2008/119567; și
- (j) o regiune VL cum s-a descris in SECV ID NR: 179 sau 183 din WO 2008/119567 și regiunea VH cum s-a descris in SECV ID NR: 177 sau 181 din WO 2008/119567.
- 55 Conform unui exemplu de realizare preferat al constructului anticorpului din prezenta invenție, domeniile de legare și în special al doilea domeniu de legare (care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T) au următorul format: Perechile de regiuni VH și regiuni VL sunt în formatul unui anticorp cu lanț unic (scFv). Regiunile VH și VL sunt aranjate în ordinea VH-VL sau VL-VH. Este de preferat ca regiunea VH să fie poziționată N-terminal la o secvență linker, și regiunea VL să fie poziționată C-terminal la o secvență linker.
- 60

O variantă preferată a constructului de anticorp descrisă mai sus a prezentei invenții este caracterizată prin al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac cuprinzând o secvență de aminoacizi selectată din grupul constând SECV ID NRs: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 sau 187 din WO 2008/119567.

Prin urmare, într-un exemplu de realizare preferat, constructul anticorpului conform invenției cuprinde o polipeptidă selectată dintre cele descrise în SECV ID NR: 40, SECV ID NR: 50, SECV ID NR: 60, SECV ID NR: 70, SECV ID NR: 80, SECV ID NR: 90, SECV ID NR: 100, SECV ID NR: 110, SECV ID NR: 120, SECV ID NR: 211, SECV ID NR: 212, SECV ID NR: 213, SECV ID NR: 214, SECV ID NR: 215, SECV ID NR: 216, SECV ID NR: 217, SECV ID NR: 438 și SECV ID NR: 532. Aceste constructe de anticorpi au un prim domeniu de legare care se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 258.

Intr-o variantă alternativă, constructul anticorpului conform invenției cuprinde o polipeptidă selectată din grupul constând din cei descriși în SECV ID NR: 130, SECV ID NR: 140, SECV ID NR: 150, SECV ID NR: 160, SECV ID NR: 170, SECV ID NR: 218, SECV ID NR: 219, SECV ID NR: 220, SECV ID NR: 494, SECV ID NR: 495, SECV ID NR: 496, SECV ID NR: 497, SECV ID NR: 498, SECV ID NR: 499, SECV ID NR: 500, SECV ID NR: 501, SECV ID NR: 502, SECV ID NR: 503, SECV ID NR: 504, SECV ID NR: 505, SECV ID NR: 506, SECV ID NR: 507, SECV ID NR: 508, SECV ID NR: 509, SECV ID NR: 510, SECV ID NR: 511, SECV ID NR: 512, SECV ID NR: 513, SECV ID NR: 514, SECV ID NR: 515, și SECV ID NR: 516. Aceste constructe de anticorpi au un prim domeniu de legare care se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 259.

Sunt de asemenea avute în vedere modificările secvenței de aminoacizi a constructelor de anticorpi descrise aici. De exemplu, poate fi de dorit să se îmbunătățească afinitatea de legare și/sau alte proprietăți biologice ale constructului anticorpului. Variantele secvenței de aminoacizi ale constructelor de anticorpi sunt preparate prin introducerea modificărilor adecvate de nucleotide în constructele de anticorp ale acidului nucleic sau prin sinteza peptidelor. Toate modificările descrise mai jos ale secvenței de aminoacid ar trebui să conducă la un construct de anticorp care încă păstrează activitatea biologică dorită (legarea la DLL3 și la CD3) a moleculei parentale nemodificate.

Termenul "aminoacid" sau "reziduu de aminoacid" se referă în mod tipic la un aminoacid având definiția sa recunoscută în domeniu, cum ar fi un aminoacid selectat din grupul constând din: alanină (Ala sau A); arginină (Arg sau R); asparagină (Asn sau N); acid aspartic (Asp sau D); cisteină (Cys sau C); glutamina (Gln sau Q); acid glutamic (Glu sau E); glicină (Gly sau G); histidină (His sau H); izoleucina (Ile sau I); leucina (Leu sau L); lizină (Lys sau K); metionină (Met sau M); fenilalanină (Phe sau F); pro lină (Pro sau P); serină (Ser sau S); treonină (Thr sau T); triptofan (Trp sau W); tirozină (Tyr sau Y); și valină (Val sau V), deși modificați, sintetici sau rari aminoacizii pot fi utilizați după cum se dorește. În general, aminoacizii pot fi grupați ca având un lanț lateral nepolar (de ex., Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); un lanț lateral încărcat negativ (de ex., Asp, Glu); un lanț lateral încărcat pozitiv (de ex., Arg, His, Lys); sau un lanț lateral polar neîncărcat (de ex., Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp și Tyr).

Modificările aminoacizilor includ, de exemplu, ștergeri din și/sau inserții în și/sau substituții ale reziduurilor din secvențele de aminoacizi ale constructelor anticorpului. Orice combinație de ștergere, inserare și substituție este făcută pentru a ajunge la constructul final, cu condiția ca constructul final să posede caracteristicile dorite. Modificările aminoacizilor pot, de asemenea, modifica procesele post-tranlaționale ale constructelor anticorpului, cum ar fi schimbarea numărului sau poziției situsurilor de glicozilare.

De exemplu, 1, 2, 3, 4, 5 sau 6 aminoacizi pot fi inserați sau șterse în fiecare dintre CDR-uri (desigur, în funcție de lungimea lor), în timp ce 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 sau 25 aminoacizi pot fi inserați sau șterși în fiecare dintre FR. De preferință, inserțiile de secvențe de aminoacizi includ fuziuni amino- și/sau carboxil-terminale variind în lungime de la 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 sau 10 reziduuri la polipeptide care conțin o sută sau mai multe reziduuri, precum și inserții intra-secvență ale resturilor de aminoacizi unici sau multipli. O variantă de inserție a constructului anticorpului conform invenției include fuziunea la capătul N-terminal sau la capătul C-terminal al constructului anticorpului unei enzime sau fuziunea la o polipeptidă care crește timpul de înjumătățire plasmatică al constructului anticorpului.

Situsurile cu cel mai mare interes pentru mutagenză substituțională includ CDR-urile lanțului greu și/sau ușor, în special regiunile hipervariabile, dar sunt avute în vedere și modificări ale FR în lanțul greu și/sau ușor. Substituțiile sunt preferabil substituții conservatoare așa cum este descris aici. De preferință, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 sau 10 aminoacizi pot fi substituiți într-un CDR,

în timp ce 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 sau 25 aminoacizi pot fi substituiți în regiunile cadru (FR), în funcție de lungimea CDR sau FR. De exemplu, dacă o secvență CDR cuprinde 6 aminoacizi, se preconizează că unul, doi sau trei dintre acești aminoacizi sunt substituiți. În mod similar, dacă o secvență CDR cuprinde 15 aminoacizi, este prevăzut ca

5 unul, doi, trei, patru, cinci sau șase dintre acești aminoacizi să fie substituiți.

O metodă utilă pentru identificarea anumitor reziduuri sau regiuni ale constructelor de anticorpi care sunt locații preferate pentru mutageneză se numește „mutageneză cu scanare de alanină” așa cum este descris de Cunningham și Wells în Science, 244: 1081-1085 (1989). Aici, este identificat un reziduu sau un grup de reziduuri țintă din constructul anticorpului (de ex.,

10 reziduuri încărcate, cum ar fi arg, asp, his, lys și glu) și înlocuit cu un aminoacid neutru sau încărcat negativ (cel mai preferabil alanină sau polialanină) să afecteze interacțiunea aminoacizilor cu epitopul.

Acele locații ale aminoacizilor care demonstrează sensibilitate funcțională la substituții sunt apoi rafinate prin introducerea de variante suplimentare sau alte variante la sau pentru,

15 locurile de substituție. Astfel, în timp ce locul sau regiunea pentru introducerea unei variații a secvenței de aminoacizi este predeterminată, natura mutației *in sine* nu trebuie să fie predeterminată. De exemplu, pentru a analiza sau optimiza performanța unei mutații la un anumit situs, scanarea alaninei sau mutageneza aleatorie pot fi efectuate la un codon sau regiune țintă, iar variantele de construct exprimate ale anticorpului sunt selectate pentru combinația optimă a

20 activității dorite. Tehnicile pentru realizarea mutațiilor de substituție la situsurile predeterminate din ADN având o secvență cunoscută sunt bine cunoscute, de exemplu, mutageneza primerului M13 și mutageneza PCR. Screeningul mutanților se face folosind teste ale activităților de legare a antigenului, cum ar fi legarea DLL3 sau CD3.

În general, dacă aminoacizii sunt substituiți într-unul sau mai multe sau toate CDR-urile

25 lanțului greu și/sau ușor, este de preferat ca secvența „substituită” obținută atunci să fie de cel puțin 60% sau 65%, mai preferabil 70% sau 75%, chiar mai preferabil 80% sau 85%, și în mod special preferabil 90% sau 95% identică cu secvența CDR „originală”. Aceasta înseamnă că este dependentă de lungimea CDR în măsura în care este identică cu secvența „substituită”. De exemplu, un CDR având 5 aminoacizi este de preferință 80% identic cu secvența sa substituită

30 pentru a avea cel puțin un aminoacid substituit. În consecință, CDR-urile constructului anticorpului pot avea diferite grade de identitate față de secvențele lor substituite, de exemplu, CDRL1 poate avea 80%, în timp ce CDRL3 poate avea 90%.

Substituțiile preferate (sau înlocuirile) sunt substituții conservatoare. Cu toate acestea, orice substituție (inclusiv substituție neconservativă sau una sau mai multe din „substituțiile

35 exemplare” enumerate în Tabelul 1 de mai jos) este avută în vedere atât timp cât constructul anticorpului își păstrează capacitatea de a se lega la DLL3 prin primul domeniu de legare și la CD3 sau CD3 epsilon prin intermediul celui de-al doilea domeniu de legare și/sau CDR-urile sale au o identitate cu secvența apoi substituită (cel puțin 60% sau 65%, mai preferabil 70% sau 75%, chiar mai preferabil 80% sau 85%, și în mod special preferabil 90% sau 95% identic cu secvența CDR

40 „originală”).

Substituțiile conservatoare sunt prezentate în Tabelul 1 sub titlul „substituții preferate”. Dacă astfel de substituții duc la o schimbare a activității biologice, atunci pot fi introduse modificări mai substanțiale, denumite „substituții exemplare” în Tabelul 1, sau așa cum este

45 descris mai jos în referință la clasele de aminoacizi, și produsele selectate pentru o caracteristică dorită.

Tabelul 1: Substituții de aminoacizi

| Original | Substituții de exemplu  | Substituții preferate |
|----------|-------------------------|-----------------------|
| Ala (A)  | val, leu, ile           | val                   |
| Arg (R)  | lys, gln, asn           | lys                   |
| Asn (N)  | gln, his, asp, lys, arg | gln                   |
| Asp (D)  | glu, asn                | glu                   |
| Cys (C)  | ser, ala                | ser                   |
| Gln (Q)  | asn, glu                | asn                   |
| Glu (E)  | asp, gln                | asp                   |
| Gly (G)  | Ala                     | ala                   |

| Original | Substituții de exemplu         | Substituții preferate |
|----------|--------------------------------|-----------------------|
| His (H)  | asn, gln, lys, arg             | arg                   |
| Ile (I)  | leu, val, met, ala, phe        | leu                   |
| Leu (L)  | norleucină, ile, val, met, ala | ile                   |
| Lys (K)  | arg, gln, asn                  | arg                   |
| Met (M)  | leu, phe, ile                  | leu                   |
| Phe (F)  | leu, val, ile, ala, tyr        | tyr                   |
| Pro (P)  | Ala                            | ala                   |
| Ser (S)  | Thr                            | thr                   |
| Thr (T)  | Ser                            | ser                   |
| Trp (W)  | tyr, phe                       | tyr                   |
| Tyr (Y)  | trp, phe, thr, ser             | phe                   |
| Val (V)  | ile, leu, met, phe, ala        | leu                   |

Modificări substanțiale ale proprietăților biologice ale constructului anticorpului conform prezentei invenții se realizează prin selectarea substituițiilor care diferă semnificativ prin efectul lor asupra menținerii (a) structurii scheletului polipeptidic în zona substituției, de exemplu, ca o foaie sau conformație elicoidală, (b) sarcina sau hidrofobicitatea moleculei la locul țintă sau (c) cea mai mare parte a lanțului lateral. Reziduurile naturale sunt împărțite în grupuri pe baza proprietăților comune ale lanțului lateral: (1) hidrofob: norleucina, met, ala, val, leu, ile; (2) hidrofîl neutru: cys, ser, thr; (3) acid: asp, glu; (4) bazic: asn, gin, his, lys, arg; (5) reziduuri care influențează orientarea lanțului: gly, pro; și (6) aromatic: trp, tyr, phe.

Înlocuirile neconservative vor presupune schimbul unui membru al uneia dintre aceste clase cu o altă clasă. Orice rest de cisteină care nu este implicat în menținerea conformației corecte a constructului anticorpului poate fi substituit, în general cu serină, pentru a îmbunătăți stabilitatea oxidativă a moleculei și pentru a preveni reticularea aberantă. În schimb, se pot adăuga legături de cisteină la anticorp pentru a îmbunătăți stabilitatea acestuia (în special în cazul în care anticorpul este un fragment de anticorp, cum ar fi un fragment Fv).

Pentru secvențe de aminoacizi, identitatea și/sau similitudinea secvenței este determinată prin utilizarea tehnicilor standard cunoscute în domeniu, incluzând, dar fără a se limita la, algoritmul de identitate a secvenței locale al Smith și Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2: 482, algoritmul de aliniere a identității secvenței lui Needleman și Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443, căutarea metodei de similaritate a lui Pearson și Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Știință. SUA. 85: 2444, implementări computerizate ale acestor algoritmi (GAP, BESTFIT, FASTA și TFASTA în pachetul software Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), Programul de secvență Best Fit descris de Devereux și colab., 1984, Nucl. Acid Res. 12: 387-395, preferabil folosind setările implicite sau prin inspecție. De preferință, identitatea procentuală este calculată de FastDB pe baza următorilor parametri: penalizare de nepotrivire de 1; penalizare gap de 1; penalizare pentru dimensiunea decalajului de 0,33; și penalizarea de aderare de 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Un exemplu de algoritm util este PILEUP. PILEUP creează o aliniere de secvență multiplă dintr-un grup de secvențe conexe utilizând alinieri progresive, în perechi. Poate, de asemenea, să traseze un copac care să arate relațiile de grupare utilizate pentru a crea alinierea. PILEUP folosește o simplificare a metodei de aliniere progresivă a lui Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35: 351-360; metoda este similară cu cea descrisă de Higgins și Sharp, 1989, CABIOS 5: 151-153. Parametri utili PILEUP, care includ o greutate implicită a golului de 3,00, o greutate implicită a lungimii golului de 0,10 și goluri finale ponderate.

Un alt exemplu de algoritm util este algoritmul BLAST, descris în: Altschul și colab., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul și colab., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; și Karin și colab., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A. 90:5873-5787. Un program BLAST deosebit de util este programul WU-BLAST-2 care a fost obținut de Altschul și colab., 1996, Methods in Enzymology 266:460-480. WU-BLAST-2 folosește mai mulți parametri de căutare, majoritatea fiind setați la valorile implicite. Parametrii reglabili sunt setați cu următoarele valori: interval

suprapunere = 1, fracție suprapunere = 0,125, prag cuvânt (T) = II. Parametrii HSP S și HSP S2 sunt valori dinamice și sunt stabiliți de programul în sine, în funcție de compoziția secvenței particulare și a compoziției bazei de date particulare în raport cu care se caută secvența de interes; cu toate acestea, valorile pot fi ajustate pentru a crește sensibilitatea.

5 Un algoritm util suplimentar este BLAST decalat ca raportat de Altschul și colab., 1993, Nucl. Acids Res. 25:3389-3402. BLAST golit folosește scoruri de substituție BLOSUM-62; parametru prag T setat la 9; metoda cu două lovituri pentru a declanșa extensii fără gol, încarcă lungimi de goluri de k un cost de 10 + k; Xu setat la 16, și Xg setat la 40 pentru etapa de căutare a bazei de date și la 67 pentru etapa de ieșire a algoritmilor. Alinierile golite sunt declanșate de un  
10 scor care corespunde la aproximativ 22 de biți.

In general, omologia aminoacizilor, similitudinea sau identitatea dintre variantele CDR individuale sunt de cel puțin 60% față de secvențele descrise aici și mai tipic cu omologii sau identități de preferință crescătoare de cel puțin 65% sau 70%, mai preferabil de cel puțin 75% sau 80%, chiar mai preferabil cel puțin 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%  
15 și aproape 100%. În mod similar, „procent (%) identitate de secvență a acidului nucleic” în raport cu secvența de acid nucleic a proteinelor de legare identificate aici este definită ca procentul de reziduuri de nucleotide dintr-o secvență candidat care sunt identice cu resturile de nucleotide din codificarea secvenței constructului anticorpului. O metodă specifică utilizează modulul BLASTN al WU-BLAST-2 setat la parametrii impliciti, cu intervalul de suprapunere și fracția de  
20 suprapunere setată la 1 și, respectiv, 0,125.

In general, omologia secvenței de acid nucleic, similitudinea sau identitatea dintre secvențele de nucleotide care codifică variantele CDR individuale și secvențele de nucleotide descrise aici sunt de cel puțin 60% și, mai tipic, cu omologii sau identități de preferință crescătoare de cel puțin 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,  
25 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, sau 99% și aproape 100%. Astfel, o „variantă CDR” este una cu omologia specificată, asemănarea sau identitatea cu CDR-ul părinte al invenției și împărtășește funcția biologică, incluzând, dar fără a se limita la, cel puțin 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81 %, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, sau 99% a specificității și/sau activității CDR părinte.

30 Intr-o variantă, procentul de identitate față de linia germinativă umană a constructelor anticorpului conform invenției este  $\geq 70\%$  sau  $\geq 75\%$ , mai preferabil  $\geq 80\%$  sau  $\geq 85\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 90\%$ , și cel mai preferabil  $\geq 91\%$ ,  $\geq 92\%$ ,  $\geq 93\%$ ,  $\geq 94\%$ ,  $\geq 95\%$  sau chiar  $\geq 96\%$ . Vezi Exemplul 7. Identitatea față de produsele genei germinale ale anticorpilor umani este considerată a fi o caracteristică importantă pentru a reduce riscul proteinelor terapeutice de a  
35 provoca un răspuns imun împotriva medicamentului la pacient în timpul tratamentului. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36 (2005) 3-10) demonstrează că reducerea porțiunilor neumane de construct de anticorpi medicamentoși duce la o scădere a riscului de a induce anticorpi anti-medicament la pacienți în timpul tratamentului. Prin compararea unui număr exhaustiv de medicamente pentru anticorpi evaluați clinic și datele imunogenității  
40 respective, se arată tendința că umanizarea regiunilor V ale anticorpilor face proteina mai puțin imunogenă (în medie 5,1% dintre pacienți) decât anticorpii care prezintă regiuni V neumane nealterate (în medie 23,59% dintre pacienți). Un grad mai mare de identitate a secvențelor umane este, prin urmare, de dorit pentru terapia proteică bazată pe regiunea V sub formă de constructe de anticorpi. În acest scop al determinării identității liniei germinale, regiunile V ale VL  
45 pot fi alinate cu secvențele de aminoacizi ale segmentelor V ale liniei germinale umane și ale segmentelor J (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) folosind software-ul Vector NTI și secvența de aminoacizi calculată prin împărțirea resturilor de aminoacizi identici la numărul total de resturi de aminoacizi ale VL în procente. Același lucru poate fi valabil și pentru segmentele VH (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) cu excepția faptului că VH CDR3 poate fi exclus din cauza  
50 diversității sale ridicate și a lipsei partenerilor de aliniere existenți ai liniei germinale umane VH CDR3. Tehnicile recombinante pot fi apoi utilizate pentru a crește identitatea secvenței la genele germinale ale anticorpilor umani.

Intr-o altă variantă de realizare, constructele anticorpilor bispecfici conform prezentei invenții prezintă randamente ridicate de monomeri în condiții standard de scară de cercetare, *de ex.*, într-un proces standard de purificare în doi pași. De preferință, randamentul în monomeri al  
55 constructelor de anticorpi conform invenției este  $\geq 0,25$  mg/L supernatant, mai preferabil  $\geq 0,5$  mg/L, chiar mai preferabil  $\geq 1$  mg/L, și cel mai preferabil  $\geq 3$  mg/L supernatant.

In mod similar, randamentul izoforme constructelor anticorpilor dimerici și, prin urmare, procentul de monomer (*adică*, monomer: (monomer + dimer)) din constructele anticorpului pot fi  
60 determinate. Productivitatea constructelor de anticorpi monomerici și dimerici și procentul de monomer calculat pot *de ex.* să fie obținut în etapa de purificare SEC a supernatantului de cultură

din producția standardizată la scară de cercetare în sticle cilindru. Într-un exemplu de realizare, procentul de monomer al constructelor anticorpului este  $\geq 80\%$ , mai preferabil  $\geq 85\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 90\%$  și cel mai preferabil  $\geq 95\%$ .

Intr-un exemplu de realizare, constructele anticorpului au o stabilitate plasmatică preferată (raportul EC50 cu plasmă la EC50 w/o plasmă) de  $\leq 5$  sau  $\leq 4$ , mai preferabil  $\leq 3,5$  sau  $\leq 3$ , even mai preferabil  $\leq 2,5$  sau  $\leq 2$ , și cel mai preferabil  $\leq 1,5$  sau  $\leq 1$ . Stabilitatea plasmatică a unui construct de anticorp poate fi testată prin incubarea constructului în plasma umană la 37°C timp de 24 de ore urmată de determinarea EC50 într-un test de citotoxicitate cu eliberare de crom 51. Celulele efectoare din testul de citotoxicitate pot fi stimulate de celule T CD8 pozitive umane îmbogățite. Celulele țintă pot *de ex.* să fie celule CHO transfectate cu DLL3 uman. Raportul efector-celulă țintă (E:T) poate fi ales ca 10: 1. Bazinul de plasmă umană utilizat în acest scop este derivat din sângele donatorilor sănătoși colectat de seringile acoperite cu EDTA. Componentele celulare sunt îndepărtate prin centrifugare și faza plasmatică superioară este colectată și ulterior reunită. Ca martor, constructele de anticorpi sunt diluate imediat înainte de testul de citotoxicitate în mediu RPMI-1640. Stabilitatea plasmei este calculată ca raport dintre EC50 (după incubarea plasmei) și EC50 (martor). Vezi Exemplul 11.

De asemenea, este de preferat ca conversia monomerului în dimer a constructelor anticorpului conform invenției să fie redusă. Conversia poate fi măsurată în condiții diferite și analizată prin cromatografie de excludere cu dimensiuni ridicate. Vezi Exemplul 9. De exemplu, incubarea izoformelor monomerice a constructelor anticorpului poate fi efectuată timp de 7 zile la 37°C și concentrații *de ex.* 100  $\mu\text{g/ml}$  sau 250  $\mu\text{g/ml}$  într-un incubator. În aceste condiții, este de preferat ca constructele anticorpului conform invenției să prezinte un procent de dimeri care este  $\leq 5\%$ , mai preferabil  $\leq 4\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 3\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 2,5\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 2\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 1,5\%$  și cel mai preferabil  $\leq 1\%$  sau  $\leq 0,5\%$  sau chiar 0%.

De asemenea, este de preferat ca constructele de anticorpi bispecifice conform prezentei invenției să prezinte o conversie de dimeri foarte scăzută după un număr de cicluri de îngheț/dezgheț. De exemplu, monomerul de construct de anticorpi este ajustat la o concentrație de 250  $\mu\text{g/ml}$ , *de ex.* în tampon de formulare generic și supus la trei cicluri de îngheț/dezgheț (îngheț la -80°C timp de 30 de minute urmat de decongelare timp de 30 de minute la temperatura camerei), urmat de SEC de înaltă performanță pentru a determina procentul de construct de anticorp monomeric inițial, care au fost transformate în constructe de anticorp dimeric. De preferință, procentele dimerice ale constructelor de anticorpi bispecifice sunt  $\leq 5\%$ , mai preferabil  $\leq 4\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 3\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 2,5\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 2\%$ , chiar mai preferabil  $\leq 1,5\%$ , și cel mai mult de preferință  $\leq 1\%$  sau chiar  $\leq 0,5\%$ , de exemplu după trei cicluri de îngheț/dezgheț.

constructele de anticorpi bispecifice conform prezentei invenției prezintă de preferință o termostabilitate favorabilă cu temperaturi de agregare  $\geq 45^\circ\text{C}$  sau  $\geq 50^\circ\text{C}$ , mai preferabil  $\geq 52^\circ\text{C}$  sau  $\geq 54^\circ\text{C}$ , chiar mai preferabil  $\geq 56^\circ\text{C}$  sau  $\geq 57^\circ\text{C}$ , și cel mai preferabil  $\geq 58^\circ\text{C}$  sau  $\geq 59^\circ\text{C}$ . Parametrul de termostabilitate poate fi determinat în termeni de temperatură de agregare a anticorpilor după cum urmează: Soluția de anticorp la o concentrație de 250  $\mu\text{g/ml}$  este transferată într-o cuvă de unică folosință și plasată într-un dispozitiv Dynamic Light Scattering (DLS). Proba este încălzită de la 40°C la 70°C la o rată de încălzire de 0,5°C/min, cu achiziție constantă a razei măsurate. Creșterea razei indicând topirea proteinei și agregarea este utilizată pentru a calcula temperatura de agregare a anticorpului. Vezi Exemplul 10.

Alternativ, curbele de topire a temperaturii pot fi determinate prin calorimetrie de scanare diferențială (DSC) pentru a determina stabilitățile intrinseci ale proteinelor biofizice ale constructelor anticorpului. Aceste experimente sunt efectuate folosind un dispozitiv VP-DSC MicroCal LLC (Northampton, MA, S.U.A.). Absorbția energetică a unei probe care conține un construct de anticorp este înregistrată de la 20°C la 90°C comparativ cu o probă care conține doar tamponul de formulare. Constructele anticorpului sunt ajustate la o concentrație finală de 250  $\mu\text{g/ml}$ , *de ex.* în tamponul de rulare SEC. Pentru înregistrarea curbei de topire respective, temperatura generală a probei este mărită în trepte. La fiecare temperatură T se captează energia probei și se înregistrează referința tamponului de formulare. Diferența de absorbție a energiei Cp (kcal/mol/°C) a eșantionului minus referința este reprezentată grafic în funcție de temperatura respectivă. Temperatura de topire este definită ca temperatura la prima maximă de absorbție a energiei.

De asemenea, se preconizează că constructul anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției nu reacționează încrucișat cu (*adică* nu se leagă în mod esențial) de paralogii DLL3 umani DLL1 și/sau DLL4. Mai mult, se preconizează că constructul anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției nu reacționează încrucișat cu (*adică* nu se leagă în mod esențial) DLL3 de paralogii DLL1 și/sau DLL4 de macac/cyno. Vezi Exemplul 6.

Constructele anticorpului bispecific DLL3 xCD3 conform invenției sunt, de asemenea, prevăzute să aibă o turbiditate (măsurată prin OD340 după concentrația de anticorp monomeric purificat la 2,5 mg/ml și incubare peste noapte) de  $\leq 0,2$ , de preferință de  $\leq 0,15$ , mai preferabil de  $\leq 0,12$ , chiar mai preferabil de  $\leq 0,1$  și cel mai preferabil de  $\leq 0,08$ . Vezi Exemplul 12.

5 Constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției sunt, de asemenea, avute în vedere să nu fie internalizate sau să nu fie supuse internalizării semnificative de către celula țintă. Rata de internalizare poate fi testată *de ex.* așa cum este descris în Exemplul 16. De preferință, rata de internalizare (*de ex.* măsurată ca o scădere a citotoxicității) este  $\leq 20\%$  după o (pre) incubare de 2 ore a constructului anticorpului cu celula țintă, mai preferabil  $\leq 15\%$ , chiar mai  
10 preferabil  $\leq 10\%$  și cel mai preferabil  $\leq 5\%$ .

De asemenea, se preconizează că DLL3 revărsat sau solubil nu afectează în mod semnificativ eficacitatea sau activitatea biologică a constructelor de anticorp bispecific DLL3xCD3 conform invenției. Acest lucru poate fi măsurat *de ex.* într-un test de citotoxicitate în care se adaugă DLL3 solubil la concentrații crescânde la test, *de ex.* la 0 nM - 0,3 nM - 0,7 nM - 1  
15 nM - 3 nM - 7 nM - 12 nM. Valoarea EC50 a constructului anticorpului testat nu ar trebui să fie crescută semnificativ în prezența DLL3 solubil. Vezi Exemplul 17.

Intr-o altă variantă de realizare, constructul anticorpului conform invenției este stabil la pH acid. Cu cât constructul anticorpului se comportă mai tolerant la pH nefiziologic, cum ar fi pH 5,5 (un pH care este necesar pentru a rula, *de ex.*, o cromatografie cu schimb de cationi), cu atât  
20 este mai mare recuperarea constructului anticorpului eluat dintr-o coloană de schimb ionic față de cantitatea totală de proteine încărcate. Recuperarea constructului anticorpului dintr-o coloană de schimb ionic (*de ex.*, cationic) la pH 5,5 este de preferință  $\geq 30\%$ , mai preferabil  $\geq 40\%$ , mai preferabil  $\geq 50\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 60\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 70\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 80\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 90\%$ , chiar mai preferabil  $\geq 95\%$  și cel mai preferabil  $\geq 99\%$ . Vezi Exemplul 13.

De asemenea, se preconizează că constructele anticorpilor bispecifici conform prezentei invenții prezintă eficacitate terapeutică sau activitate antitumorală. Acest lucru poate *de ex.* să fie evaluat într-un studiu, după cum este dezvăluit în următorul exemplu de model de xenogrefă tumorală umană în stadiu avansat:

30 În ziua 1 a studiului,  $5 \times 10^6$  celule ale unei linii celulare canceroase pozitive DLL3 umane (*de ex.*, SHP-77) sunt injectate subcutanat în flancul dorsal drept al șoarecilor femele NOD/SCID. Când volumul mediu al tumorii atinge aproximativ  $100 \text{ mm}^3$ , celulele T CD3 pozitive umane expandate in vitro sunt transplantate în șoareci prin injectarea a aproximativ  $2 \times 10^7$  celule în cavitatea peritoneală a animalelor. Șoarecii din grupul de control 1 al vehiculului nu primesc celule  
35 efectoare și sunt folosiți ca martor netransplantat pentru comparație cu grupul de control 2 al vehiculului (primind celule efectoare) pentru a monitoriza impactul celulelor T singure asupra creșterii tumorii. Tratamentul cu anticorpi începe când volumul mediu al tumorii ajunge la aproximativ  $200 \text{ mm}^3$ . Dimensiunea medie a tumorii pentru fiecare grup de tratament în ziua începerii tratamentului nu trebuie să fie statistic diferită de nici un alt grup (analiza varianței). Șoarecii sunt tratați cu 0,5 mg/kg/zi dintr-un anticorp DLL3xCD3 bispecific prin injecție  
40 intravenoasă în bolus timp de aproximativ 15 până la 20 de zile. Tumorile sunt măsurate prin etrier în timpul studiului și progresul evaluat prin compararea intergrupului volumelor tumorale (TV). Inhibarea creșterii tumorale T/C [%] este determinată prin calcularea TV ca  $T/C\% = 100 \times (TV \text{ median al grupului analizat}) / (TV \text{ median al grupului de control 2})$ .

45 Persoanele calificate știu cum să modifice sau să adapteze anumiți parametri ai acestui studiu, cum ar fi numărul de celule tumorale injectate, locul de injectare, numărul de celule T umane transplantate, cantitatea de anticorpi bispecifici care trebuie administrate și momentele de timp, în timp ce se ajunge încă la un rezultat semnificativ și reproductibil. De preferință, inhibarea creșterii tumorii T/C [%] este  $\leq 70$  sau  $\leq 60$ , mai preferabil  $\leq 50$  sau  $\leq 40$ , chiar mai preferabil  $\leq$   
50  $30$  sau  $\leq 20$  și cel mai preferabil  $\leq 10$  sau  $\leq 5$  sau chiar  $\leq 2,5$ .

Invenția oferă în plus o polinucleotidă care codifică un construct de anticorp al invenției.

O polinucleotidă este un biopolimer compus din 13 sau mai mulți monomeri nucleotidici legați covalent într-un lanț. ADN (cum ar fi ADNc) și ARN (cum ar fi ARNm) sunt exemple de polinucleotide cu funcție biologică distinctă. Nucleotidele sunt molecule organice care servesc  
55 drept monomeri sau subunități ale moleculelor de acid nucleic precum ADN sau ARN. Molecula de acid nucleic sau polinucleotida poate fi dublu catenară și monocatenară, liniară și circulară. Este cuprinsă de preferință într-un vector care este preferabil cuprins într-o celulă gazdă. Această celulă gazdă este, *de ex.* după transformare sau transfecție cu vectorul sau polinucleotida conform invenției, capabilă să exprime constructul anticorpului. În acest scop, polinucleotida sau molecula  
60 de acid nucleic este legată operativ de secvențe martor.

Codul genetic este setul de reguli prin care informațiile codificate în materialul genetic (acizii nucleici) sunt translate în proteine. Decodarea biologică în celulele vii este realizată de ribozom care leagă aminoacizii într-o ordine specificată de ARNm, folosind molecule de ARNt pentru a transporta aminoacizii și pentru a citi trei nucleotide ARNm la un moment dat. Codul definește modul în care secvențele acestor triplete de nucleotide, numite codoni, specifică ce aminoacid va fi adăugat în timpul sintezei proteinelor. Cu unele excepții, un codon cu trei nucleotide într-o secvență de acid nucleic specifică un singur aminoacid. Deoarece marea majoritate a genelor sunt codificate cu exact același cod, acest cod particular este adesea denumit codul genetic canonic sau standard. În timp ce codul genetic determină secvența de proteine pentru o anumită regiune de codificare, alte regiuni genomice pot influența când și unde sunt produse aceste proteine.

Mai mult, invenția furnizează un vector care cuprinde o polinucleotidă conform invenției.

Un vector este o moleculă de acid nucleic utilizată ca vehicul pentru a transfera material genetic (străin) într-o celulă. Termenul „vector” cuprinde - dar nu se limitează la - plasmide, virusuri, cosmide și cromozomi artificiali. În general, vectorii proiectați cuprind o origine a replicării, un situs de multiclonare și un marker selectabil. Vectorul în sine este, în general, o secvență nucleotidică, de obicei o secvență ADN, care cuprinde o inserție (transgenă) și o secvență mai mare care servește drept „coloana vertebrală” a vectorului. Vectorii moderni pot cuprinde caracteristici suplimentare în afară de inserția transgenică și o coloană vertebrală: promotor, marker genetic, rezistență la antibiotice, genă raportor, secvență de țintire, etichetă de purificare a proteinelor. Vectorii numiți vectori de expresie (construite de expresie) sunt în mod specific pentru expresia transgenului în celula țintă și, în general, au secvențe de control.

Termenul "secvențe de control" se referă la secvențe de ADN necesare pentru exprimarea unei secvențe de codare legate operabil într-un anumit organism gazdă. Secvențele de control care sunt potrivite pentru procariote, de exemplu, includ un promotor, opțional o secvență operator și un situs de legare a ribozomilor. Se știe că celulele eucariote utilizează promotori, semnale de poliadenilare și potențiatori.

Un acid nucleic este „legat operabil” atunci când este plasat într-o relație funcțională cu o altă secvență de acid nucleic. De exemplu, ADN-ul pentru o pre-secvență sau un lider secretor este legat operabil de ADN-ul pentru o polipeptidă dacă este exprimat ca o preproteină care participă la secreția polipeptidei; un promotor sau amplificator este legat operabil de o secvență de codificare dacă afectează transcrierea secvenței; sau un situs de legare a ribozomului este legat în mod operațional de o secvență de codificare dacă este poziționat astfel încât să faciliteze translația. În general, „legat operabil” înseamnă că secvențele ADN care sunt legate sunt adiacente și, în cazul unui lider secretor, adiacente și în fază de citire. Cu toate acestea, amplificatorii nu trebuie să fie adiacenți. Legarea se realizează prin ligare la situsuri de restricție convenabile. Dacă astfel de situsuri nu există, adaptoarele sau linkerele oligonucleotidice sintetice sunt utilizate în conformitate cu practica convențională.

„Transfecția” este procesul de introducere deliberată a moleculelor de acid nucleic sau a polinucleotidelor (inclusiv a vectorilor) în celulele țintă. Termenul este utilizat mai ales pentru metodele non-virale în celulele eucariote. Transducția este adesea utilizată pentru a descrie transferul de molecule de acid nucleic sau polinucleotide mediate de virus. Transfecția celulelor animale implică de obicei deschiderea porilor tranzitorii sau „găuri” în membrana celulară, pentru a permite absorbția materialului. Transfecția poate fi efectuată folosind fosfat de calciu, prin electroporare, prin stoarcere celulară sau prin amestecarea unei lipide cationice cu materialul pentru a produce lipozomi, care se fuzionează cu membrana celulară și își depun încărcătura în interior.

Termenul "transformare" este utilizat pentru a descrie transferul non-viral al moleculelor de acid nucleic sau polinucleotidelor (inclusiv vectori) în bacterii și, de asemenea, în celule eucariote non-animale, inclusiv celule vegetale. Transformarea este, prin urmare, modificarea genetică a unei celule eucariote bacteriene sau non-animale, rezultată din absorbția directă prin membrana (celulele) celulară din mediul înconjurător și incorporarea ulterioară a materialului genetic exogen (molecule de acid nucleic). Transformarea poate fi efectuată prin mijloace artificiale. Pentru ca transformarea să se întâmple, celulele sau bacteriile trebuie să se afle într-o stare de competență, care ar putea apărea ca răspuns limitat la condiții de mediu, cum ar fi înfometarea și densitatea celulară.

Mai mult, invenția furnizează o celulă gazdă transformată sau transfectată cu molecula de polinucleotidă/acid nucleic sau cu vectorul invenției.

Așa cum sunt utilizate aici, termenii „celulă gazdă” sau „celulă receptor” sunt intenționați să includă orice celulă individuală sau cultură celulară care poate fi sau a fost/au fost receptori de vectori, molecule de acid nucleic exogene și polinucleotide care codifică constructul anticorpului

din prezenta invenție; și/sau destinatarii constructului anticorpului în sine. Introducerea materialului respectiv în celulă se realizează prin transformare, transfecție și altele asemenea. Termenul "celulă gazdă" este, de asemenea, destinat să includă descendenți sau descendenți potențiali ai unei singure celule. Deoarece anumite modificări pot apărea în generațiile următoare, fie din cauza mutației naturale, accidentale sau deliberate, fie din cauza influențelor mediului, astfel de descendenți nu pot fi, de fapt, complet identici (în morfologie sau în complement genomic sau ADN total) cu celula părinte, dar este încă inclus în domeniul de aplicare al termenului așa cum este utilizat aici. Celulele gazdă adecvate includ celule procariote sau eucariote și includ, dar nu se limitează la, bacterii, celule de drojdie, celule fungice, celule vegetale și celule animale, cum ar fi celule de insecte și celule de mamifere, de exemplu, murine, de șobolan, de macac sau umane.

Constructul anticorpului conform invenției poate fi produs în bacterii. După exprimare, constructul anticorpului conform invenției este izolat din pasta de celule *E. coli* într-o fracțiune solubilă și poate fi purificat prin, de ex., cromatografie de afinitate și/sau excludere de mărime. Purificarea finală poate fi efectuată similar procesului de purificare a anticorpului exprimat, de ex., în celule CHO.

În plus față de procariote, microbii eucarioti, cum ar fi ciupercile filamentoase sau drojdia, sunt adecvate clonării sau gazdele de expresie pentru constructul anticorpului conform invenției. *Saccharomyces cerevisiae*, sau drojdia comună de brutărie, este cea mai frecvent utilizată în rândul microorganismelor gazdă eucariote inferioare. Cu toate acestea, o serie de alte genuri, specii și tulpini sunt în mod obișnuit disponibile și utile aici, cum ar fi gazde de *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* cum ar fi *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilae* (ATCC 36906), *K. thermotolerans*, și *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402 226); *Pichia pastoris* (EP 183 070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* cum ar fi *Schwanniomyces occidentalis*; și ciuperci filamentoase precum *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* și *Aspergillus* gazde precum *A. nidulans* și *A. niger*.

Celulele gazdă adecvate pentru exprimarea constructului de anticorp glicozilat conform invenției sunt derivate din organisme multicelulare. Exemplele de celule nevertebrate includ celule de plante și insecte. Au fost identificate numeroase tulpini și variante baculovirale și celule gazdă permissive de insecte corespunzătoare de la gazde cum ar fi *Spodoptera frugiperda* (omidă), *Aedes aegypti* (țânțar), *Aedes albopictus* (țânțar), *Drosophila melanogaster* (musca fructelor) și *Bombyx mori*. O varietate de tulpini virale pentru transfecție sunt disponibile publicului, de ex., varianta L-1 a *Autographa californica* NPV și tulpina Bm-5 a *Bombyx mori* NPV, și astfel de virusuri pot fi folosiți ca virus aici conform prezentei invenții, în special pentru transfecția celulelor de *Spodoptera frugiperda*.

Culturile de celule vegetale de bumbac, porumb, cartofi, soia, petunie, roșii, arabidopsis și tutun pot fi folosite și ca gazde. Clonarea și vectorii de expresie utili în producția de proteine în cultura celulelor vegetale sunt cunoscute de specialiștii în domeniu. Vezi de ex. Hiatt și colab., Nature (1989) 342: 76-78, Owen și colab., (1992) Bio/Technology 10: 790-794, Artsenko și colab., (1995) The Plant J 8: 745-750, și Fecker și colab., (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986.

Cu toate acestea, interesul a fost cel mai mare pentru celulele vertebrate, iar propagarea celulelor vertebrate în cultură (cultura țesuturilor) a devenit o procedură de rutină. Exemple de linii de celule gazdă de mamifere utile sunt linia CV1 de rinichi de maimuță transformată prin SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); linia renală embrionară umană (293 sau 293 celule subclonate pentru creștere în cultură în suspensie, Graham și colab., J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); celule de rinichi de pui de hamster (BHK, ATCC CCL 10); celule ovariene de hamster chinezesc/DHFR (CHO, Urlaub și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. SUA 77: 4216 (1980)); celule sertoli de șoarece (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); celule de rinichi de maimuță (CV1 ATCC CCL 70); celule de rinichi de maimuță verde africană (VERO-76, ATCC CRL1587); celule de carcinom cervical uman (HELA, ATCC CCL 2); celule de rinichi de canine (MDCK, ATCC CCL 34); celule de ficat de șobolan buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); celule de plămân uman (W138, ATCC CCL 75); celule de ficat uman (Hep G2, 1413 8065); celule de tumoare mamară de șoarece (MMT 060562, ATCC CCL5 1); celule TRI (Mather et al., Annals N. Y Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); celule MRC 5; celule FS4; și linie de hepatom uman (Hep G2).

Într-o altă variantă de realizare, invenția furnizează un procedeu pentru producerea unui construct de anticorp conform invenției, procedeul menționat cuprinzând cultivarea unei celule gazdă a invenției în condiții care permit exprimarea constructului anticorpului invenției și recuperarea constructului anticorpului produs din cultură.

Așa cum este utilizat aici, termenul "cultivare" se referă la întreținerea, diferențierea, creșterea, proliferarea și/sau propagarea *in vitro* a celulelor în condiții adecvate într-un mediu.

Termenul "expresie" include orice etapă implicată în producerea unui anticorp construit conform invenției incluzând, dar fără a se limita la, transcriere, modificare post-transcripțională, translație, modificare post-translațională și secreție.

Atunci când se utilizează tehnici recombinante, constructul anticorpului poate fi produs intracelular, în spațiul periplasmatic sau secretat direct în mediu. Dacă constructul anticorpului este produs intracelular, ca prim pas, resturile de particule, fie celule gazdă, fie fragmente lizate, sunt îndepărtate, de exemplu, prin centrifugare sau ultrafiltrare. Carter și colab., Bio/Technology 10: 163-167 (1992) descriu o procedură pentru izolarea anticorpilor care sunt secretați în spațiul periplasmatic al *E. coli*. Pe scurt, pasta celulară este decongelată în prezența acetatului de sodiu (pH 3,5), EDTA și fenilmetilsulfonilfluorură (PMSF) timp de aproximativ 30 de minute. Resturile celulare pot fi îndepărtate prin centrifugare. În cazul în care anticorpul este secretat în mediu, supernatanții din astfel de sisteme de expresie sunt, în general, mai întâi concentrați utilizând un filtru de concentrație de proteine disponibil comercial, de exemplu, o unitate de ultrafiltrare Amicon sau Millipore Pellicon. Un inhibitor de protează, cum ar fi PMSF, poate fi inclus în oricare dintre etapele anterioare pentru inhibarea proteolizei și pot fi incluse antibiotice pentru a preveni creșterea contaminanților accidentali.

Constructul anticorpului conform invenției preparat din celulele gazdă poate fi recuperat sau purificat folosind, de exemplu, cromatografie cu hidroxilapatită, electroforeză pe gel, dializă și cromatografie de afinitate. Alte tehnici pentru purificarea proteinelor, cum ar fi fracționarea pe o coloană cu schimb de ioni, precipitarea etanolului, HPLC cu fază inversă, cromatografie pe silice, cromatografie pe heparină SEPHAROSE™, cromatografie pe un anion sau rășină schimbătoare de cationi (cum ar fi o coloană de acid poliaspartic), cromat -focalizarea, SDS-PAGE și precipitația cu sulfat de amoniu sunt disponibile, de asemenea, în funcție de anticorpul de recuperat. În cazul în care constructul anticorpului conform invenției cuprinde un domeniu CH3, rășina Bakerbond ABX (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) este utilă pentru purificare.

Cromatografia de afinitate este o tehnică de purificare preferată. Matricea de care este atașat ligandul de afinitate este cel mai adesea agaroză, dar sunt disponibile și alte matrice. Matricele stabile mecanic, cum ar fi sticla cu pori controlați sau poli(stirendivinil)benzenul, permit viteze de curgere mai rapide și timpi de procesare mai scurți decât se poate obține cu agaroză.

Mai mult, invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând un construct de anticorp conform invenției sau un construct de anticorp produs în conformitate cu procedeul invenției.

Așa cum este utilizat aici, termenul "compoziție farmaceutică" se referă la o compoziție care este adecvată pentru administrare la un pacient, de preferință un pacient uman. Compoziția farmaceutică preferată în mod deosebit a acestei invenții cuprinde unul sau mai multe constructe de anticorpi conform invenției, de preferință într-o cantitate eficientă terapeutică. De preferință, compoziția farmaceutică mai cuprinde formulări adecvate ale unuia sau mai multor purtători (eficienți farmaceutici), stabilizatori, excipienți, diluanți, solubilizatori, agenți tensioactivi, emulgatori, conservanți și/sau adjuvanți. Conținutii acceptabili ai compoziției sunt de preferință netoxici pentru destinatari la dozele și concentrațiile utilizate. Compozițiile farmaceutice conform invenției includ, dar nu se limitează la, compoziții lichide, congelate și liofilizate.

Compozițiile inventive pot cuprinde un purtător acceptabil farmaceutic. În general, așa cum este utilizat aici, "purtător acceptabil farmaceutic" înseamnă orice soluție apoasă și neapoasă, soluții sterile, solvenți, tampoane, de ex. soluții saline tamponate cu fosfat (PBS), apă, suspensii, emulsii, cum ar fi emulsii ulei/apă, diferite tipuri de agenți de umectare, lipozomi, medii de dispersie și acoperiri, care sunt compatibile cu administrarea farmaceutică, în special cu administrarea parenterală. Utilizarea unor astfel de medii și agenți în compoziții farmaceutice este bine cunoscută în domeniu, iar compozițiile care cuprind astfel de purtători pot fi formulate prin metode convenționale bine cunoscute.

Anumite variante de realizare furnizează compoziții farmaceutice care cuprind constructul anticorpului conform invenției și în plus unul sau mai mulți excipienți, cum ar fi cei descriși în mod ilustrativ în această secțiune și în alte părți din prezenta. Excipienții pot fi utilizați în invenție în acest sens pentru o mare varietate de scopuri, cum ar fi ajustarea proprietăților fizice, chimice sau biologice ale formulărilor, cum ar fi ajustarea vâscozității, sau a proceselor invenției pentru a îmbunătăți eficacitatea și sau pentru a stabiliza astfel formulări și procese împotriva degradării și deteriorării datorate, de exemplu, stresurilor care apar în timpul fabricației, transportului, depozitării, pregătirii înainte de utilizare, administrării și ulterior.

În anumite variante, compoziția farmaceutică poate conține materiale de formulare în scopul modificării, menținerii sau conservării, de ex., pH-ului, osmolarității, vâscozității, clarității, culorii, izotonicității, mirosului, sterilității, stabilității, ratei dizolvării sau eliberării, adsorbției sau pătrunderii compoziției (vezi, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, a 18 a Ediție,

(ed.A.R. Genrmo), 1990, Mack Publishing Company). In astfel de exemple, materialele de formulare adecvate pot include, dar nu se limitează la:

- aminoacizi precum glicină, alanină, glutamină, asparagină, treonină, prolină, 2-fenilalanină, inclusiv aminoacizi încărcăți, preferabil lizină, acetat de lizină, arginină, glutamat și/sau histidină
- 5 • antimicrobiene precum agenții antibacterieni și antifungici
- antioxidanți precum acidul ascorbic, metionina, sulfatul de sodiu sau hidrogensulfatul de sodiu;
- tamponare, sisteme de tamponare și agenți de tamponare care sunt utilizați pentru a menține compoziția la pH fiziologic sau la un pH ușor mai mic, în mod obișnuit într-un interval de pH de la
- 10 aproximativ 5 la aproximativ 8 sau 9; exemple de tamponare sunt boratul, bicarbonatul, Tris-HCl, citrații, fosfații sau alți acizi organici, succinat, fosfat, histidină și acetat; de exemplu tampon Tris de aproximativ pH 7,0-8,5 sau tampon acetat de aproximativ pH 4,0-5,5;
- solvenți neapoși, cum ar fi propilenglicol, polietilenglicol, uleiuri vegetale precum uleiul de măsline și esteri organici injectabili, cum ar fi oleatul de etil;
- purtători apoși, inclusiv apă, soluții alcoolice/apoase, emulsii sau suspensii, inclusiv soluție salină
- 15 și medii tamponate;
- polimeri biodegradabili precum poliesterii;
- agenți de încărcare, cum ar fi manitolul sau glicina;
- agenți chelatori precum acidul etilendiamin tetraacetic (EDTA);
- agenți izotonici și de întârziere a absorbției;
- 20 • agenți de complexare precum cofeina, polivinilpirolidona, beta-ciclodextrina sau hidroxipropil-beta-ciclodextrina)
- umpluturi;
- monozaharide; dizaharide; și alți carbohidrați (cum ar fi glucoza, manoză sau dextrinele); carbohidrații pot fi zaharuri nereducătoare, de preferință trehaloză, zaharoză, octasulfat, sorbitol sau xilitol;
- 25 • proteine, polipeptide sau purtători proteici (cu greutate moleculară mică), cum ar fi albumina serică umană sau bovină, gelatina sau imunoglobulinele, de preferință de origine umană;
- agenți de colorare și aromatizare;
- agenți reducători cu conținut de sulf, cum ar fi glutation, acid tioctic, tioglicolat de sodiu, tioglicerol, [alfa]-monotioglicerol și tiosulfat de sodiu
- 30 • agenți de diluare;
- agenți emulgatori;
- polimeri hidrofilici cum ar fi polivinilpirolidona)
- contra-ioni care formează sare, cum ar fi sodiu;
- 35 • conservanți precum antimicrobieni, anti-oxidanți, agenți de chelare, gaze inerte și altele asemenea; exemple sunt: clorură de benzalconiu, acid benzoic, acid salicilic, timerosal, alcool fenetic, metilparaben, propilparaben, clorhexidină, acid sorbic sau peroxid de hidrogen);
- complecși metalici, cum ar fi complex de proteine Zn;
- solvenți și co-solvenți (cum ar fi glicerina, propilenglicol sau polietilenglicol);
- 40 • zaharuri și alcooli zaharici, cum ar fi trehaloză, zaharoză, octasulfatul, manitolul, sorbitolul sau xilitol stachioza, manoză, sorboză, xiloză, riboză, mioinizitoză, galactoză, lactitol, ribitol, mioinizitol, galactitol, glicerol, ciclitoli (de ex. inozitol), polietilenglicol; și alcooli zaharici polihidrici;
- agenți de suspendare;
- 45 • agenți tensioactivi sau agenți de umectare precum pluronici, PEG, esteri de sorbitan, polisorbitați precum polisorbitat 20, polisorbitat, triton, trometamină, lecitină, colesterol, tiloxapal; surfactanții pot fi detergenți, de preferință cu o greutate moleculară > 1,2 KD și/sau un polieter, de preferință cu o greutate moleculară > 3 KD; exemple nelimitative pentru detergenții preferați sunt Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 și Tween 85; exemple nelimitative pentru polieteri preferați sunt
- 50 PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 și PEG 5000;
- agenți de îmbunătățire a stabilității, cum ar fi zaharoza sau sorbitolul;
- agenți de îmbunătățire a tonicității, cum ar fi halogenuri ale metalelor alcaline, de preferință clorură de sodiu sau potasiu, manitol sorbitol;
- vehicule de livrare parenterală, inclusiv soluție de clorură de sodiu, dextroză Ringer, dextroză și
- 55 clorură de sodiu, Ringer lactat sau uleiuri fixe;
- vehicule de administrare intravenoasă, inclusiv suplimente de lichide și substanțe nutritive, suplimente de electroliți (cum ar fi cele bazate pe dextroză Ringer).

60 Este evident pentru specialiștii în domeniu că diferiții constituenți ai compoziției farmaceutice (*de ex.*, cei enumerați mai sus) pot avea efecte diferite, de exemplu, și aminoacidul poate acționa ca tampon, stabilizator și/sau antioxidant; manitolul poate acționa ca un agent de

încărcare și/sau ca agent de intensificare a tonicității; clorura de sodiu poate acționa ca vehicul de livrare și/sau agent de îmbunătățire a tonicității; etc.

Se preconizează că compoziția invenției ar putea cuprinde, în plus față de polipeptida conform invenției definită aici, agenți biologic activi suplimentari, în funcție de utilizarea intenționată a compoziției. Astfel de agenți pot fi medicamente care acționează asupra sistemului gastro-intestinal, medicamente care acționează ca citostatice, medicamente care previn hiperuricemia, medicamente care inhibă imunoreacțiile (de ex. corticosteroizi), medicamente care modulează răspunsul inflamator, medicamente care acționează asupra sistemului circulator și/sau agenți precum citokinele cunoscute în domeniu. De asemenea, se preconizează că constructul anticorpului conform prezentei invenții este aplicat într-o co-terapie, *adică* în combinație cu un alt medicament anticancer.

În anumite variante de realizare, compoziția farmaceutică optimă va fi determinată de către un specialist în domeniu, în funcție de, de exemplu, calea de administrare intenționată, formatul de eliberare și doza dorită. Vezi, de exemplu, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *supra*. În anumite variante de realizare, astfel de compoziții pot influența starea fizică, stabilitatea, viteza de eliberare *in vivo* și viteza de clearance *in vivo* a constructului anticorpului conform invenției. În anumite variante de realizare, vehiculul primar sau purtătorul dintr-o compoziție farmaceutică poate fi fie apos, fie neapos. De exemplu, un vehicul sau purtător adecvat poate fi apă pentru injecție, soluție salină fiziologică sau lichid cefalorahidian artificial, eventual suplimentat cu alte materiale comune în compoziții pentru administrare parenterală. Soluția salină tamponată neutră sau soluția salină amestecată cu albumina serică sunt în continuare vehicule exemplare. În anumite variante de realizare, constructul anticorpului din compozițiile invenției poate fi preparat pentru depozitare prin amestecarea compoziției selectate având gradul de puritate dorit cu agenți de formulare opționali (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *supra*) sub forma unei turte liofilizate sau a unei soluții apoase. Mai mult, în anumite variante de realizare, constructul anticorpului conform invenției poate fi formulat ca un liofilizat utilizând excipienți adecvați, cum ar fi zaharoza.

Când se are în vedere administrarea parenterală, compozițiile terapeutice pentru utilizare în această invenție pot fi furnizate sub forma unei soluții apoase fără pirogeni, acceptabile parenteral, cuprinzând constructul de anticorp dorit conform invenției într-un vehicul acceptabil farmaceutic. Un vehicul deosebit de potrivit pentru injecția parenterală este apa distilată sterilă în care constructul anticorpului conform invenției este formulat ca o soluție sterilă, izotonică, conservată corespunzător. În anumite variante de realizare, preparatul poate implica formularea moleculei dorite cu un agent, cum ar fi microsfele injectabile, particule bio-erodabile, compuși polimerici (cum ar fi acidul polilactic sau acidul poliglicolic), perle sau lipozomi, care pot furniza eliberarea controlată sau susținută a produsului care poate fi livrat prin injecție depozit. În anumite variante de realizare, acidul hialuronic poate fi de asemenea utilizat, având ca efect promovarea unei durate susținute în circulație. În anumite variante de realizare, dispozitivele de eliberare a medicamentelor implantabile pot fi utilizate pentru a introduce constructul de anticorp dorit.

Compoziții farmaceutice suplimentare vor fi evidente specialiștilor în domeniu, inclusiv formulări care implică constructul anticorpului conform invenției în formulări cu eliberare/administrare susținută sau controlată. Tehnicile pentru formularea unei varietăți de alte mijloace de eliberare susținută sau controlată, cum ar fi purtători de lipozomi, microparticule bio-erodabile sau perle poroase și injecții de depozit, sunt, de asemenea, cunoscute specialiștilor în domeniu. Vezi, de exemplu, cererea de brevet internațional WO9315722, care descrie eliberarea controlată a microparticulelor polimerice poroase pentru livrarea compozițiilor farmaceutice. Preparatele cu eliberare susținută pot include matrici polimerice semipermeabile sub formă de articole modelate, de ex., filme sau microcapsule. Matricile cu eliberare susținută pot include poliesteri, hidrogeluri, polilactide (așa cum este dezvăluit în brevetul US nr. 3.773.919 și publicația cererii de brevet european Nr. EP 058481), copolimeri de L-glutamic acid și gamma etil-L-glutamat (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556), poli(2-hidroxiethyl-metacrilat) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 și Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105), acetat de etilen vinil (Langer et al., 1981, *supra*) sau acid poli-D(-)-3-hidroxibutiric (publicația cererii de brevet european Nr. EP 133.988). Compozițiile cu eliberare susținută pot include, de asemenea, lipozomi care pot fi preparați prin oricare dintre mai multe metode cunoscute în domeniu. Vezi, de ex., Eppstein și colab., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A. 82:3688-3692; publicațiile cererilor de brevet European Nr. EP 036.676; EP 088.046 și EP 143.949.

Constructul anticorpului poate fi, de asemenea, prins în microcapsule preparate, de exemplu, prin tehnici de coacervare sau prin polimerizare interfacială (de exemplu, hidroximetilceluloză sau gelatină-microcapsule și, respectiv, microcapsule de poli (metilmethylacrilat)), în sisteme de eliberare a medicamentelor coloidale (de exemplu, lipozomi,

microsfere de albumină, microemulsii, nanoparticule și nanocapsule), sau în macroemulsii. Astfel de tehnici sunt dezvăluite în Remington's Pharmaceutical Sciences, ediția a 16-a, Oslo, A., Ed., (1980).

5 Compozițiile farmaceutice utilizate pentru administrarea *in vivo* sunt de obicei furnizate ca preparate sterile. Sterilizarea poate fi realizată prin filtrare prin membrane de filtrare sterile. Când compoziția este liofilizată, sterilizarea utilizând această metodă poate fi efectuată fie înainte, fie după liofilizare și reconstituire. Compozițiile pentru administrare parenterală pot fi stocate sub formă liofilizată sau într-o soluție. Compozițiile parenterale sunt, în general, plasate într-un recipient având un orificiu de acces steril, de exemplu, o pungă de soluție intravenoasă sau o fiolă  
10 având un dop străpuns de un ac hipodermic de injecție.

Un alt aspect al invenției include constructul de anticorpi cu auto-tamponare a formulărilor invenției, care pot fi utilizate ca compoziții farmaceutice, așa cum este descris în cererea de brevet internațional WO 06138181A2. O varietate de expuneri sunt disponibile cu privire la materialele și metodele de stabilizare și formulare a proteinelor utile în acest sens, cum ar fi Arakawa și colab., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick și colab., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, ed. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), și Randolph și colab., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), a se vedea în  
15 special părțile relevante pentru excipienți și procedeele acestora pentru formulări de proteine auto-tamponate în conformitate cu invenția actuală, în special în ceea ce privește produsele farmaceutice proteice și procedeele pentru utilizări medicale veterinare și/sau umane.

Sărurile pot fi utilizate în conformitate cu anumite exemple de realizare ale invenției pentru, de exemplu, a regla tăria ionică și/sau izotonicitatea unei formulări și/sau pentru a  
25 îmbunătăți solubilitatea și/sau stabilitatea fizică a unei proteine sau a altui ingredient al unei compoziții, în conformitate cu invenția. După cum se știe, ionii pot stabiliza starea nativă a proteinelor prin legarea la reziduurile încărcate de pe suprafața proteinei și prin protejarea grupărilor încărcate și polare din proteină și prin reducerea rezistenței interacțiunilor lor electrostatice, a interacțiunilor atractive și respingătoare. Ionii pot stabiliza, de asemenea, starea  
30 denaturată a unei proteine prin legarea, în special, a legăturilor peptidice denaturate (–CONH) ale proteinei. Mai mult, interacțiunea ionică cu grupările încărcate și polare dintr-o proteină poate reduce, de asemenea, interacțiunile electrostatice intermoleculare și, prin urmare, poate preveni sau reduce agregarea și insolubilitatea proteinelor.

Speciile ionice diferă semnificativ prin efectele lor asupra proteinelor. Au fost dezvoltate  
35 o serie de clasificări categorice ale ionilor și efectele acestora asupra proteinelor care pot fi utilizate în formularea compozițiilor farmaceutice în conformitate cu invenția. Un exemplu este seria Hofmeister, care clasifică soluții ionice și polare neionice prin efectul lor asupra stabilității conformaționale a proteinelor în soluție. Solutele stabilizatoare sunt denumite „kosmotrope”. Solutele destabilizante sunt denumite „haotrope”. Kosmotropele sunt utilizate în mod obișnuit la concentrații mari (de ex., > 1 molar de sulfat de amoniu) pentru a precipita proteinele din soluție  
40 („eliminare prin sărare”). Haotropele sunt utilizate în mod obișnuit pentru a dizolva și/sau pentru a solubiliza proteinele („în sărare”). Eficacitatea relativă a ionilor la „în sărare” și „din sărare” definește poziția lor în seria Hofmeister.

Aminoacizii liberi pot fi utilizați în constructul anticorpului conform formulărilor invenției în conformitate cu diferite variante ale invenției ca agenți de încărcare, stabilizatori și  
45 antioxidanți, precum și alte utilizări standard. Lizina, prolina, serina și alanina pot fi utilizate pentru stabilizarea proteinelor într-o formulare. Glicina este utilă în liofilizare pentru a asigura structura și proprietățile corecte ale turtei. Arginina poate fi utilă pentru a inhiba agregarea proteinelor, atât în formulări lichide, cât și în formulări liofilizate. Metionina este utilă ca  
50 antioxidant.

Polioli includ zaharuri, de ex., manitol, zaharoză și sorbitol și alcooli polihidrici, cum ar fi, de exemplu, glicerol și propilenglicol și, în scopuri de discuție aici, polietilenglicol (PEG) și substanțe înrudite. Polioli sunt kosmotropici. Sunt agenți stabilizatori utili atât în formulări  
55 lichide, cât și în formulări liofilizate pentru a proteja proteinele de procesele de degradare fizică și chimică. Polioli sunt, de asemenea, utili pentru ajustarea tonicității formulărilor. Printre polioli utili în anumite exemple de realizare ale invenției se numără manitolul, utilizat în mod obișnuit pentru a asigura stabilitatea structurală a turtei în formulările liofilizate. Asigură stabilitatea structurală a turtei. Este utilizat în general cu un lioprotector, de ex., zaharoză. Sorbitolul și zaharoza sunt printre agenții preferați pentru ajustarea tonicității și ca stabilizatori pentru a proteja  
60 împotriva tensiunilor de îngheț-dezghet în timpul transportului sau preparării volumelor în timpul procesului de fabricație. Zaharurile reducătoare (care conțin grupări de aldehydă sau cetonă libere),

cum ar fi glucoza și lactoza, pot glica reziduuri de lizină și arginină de suprafață. Prin urmare, în general nu se numără printre poliolii preferați pentru utilizare în conformitate cu invenția. În plus, zaharurile care formează astfel de specii reactive, cum ar fi zaharoza, care este hidrolizată în fructoză și glucoză în condiții acide și, în consecință, generează glicare, nu sunt, de asemenea, printre poliolii preferați ai invenției în acest sens. PEG este util pentru stabilizarea proteinelor și ca crioprotector și poate fi utilizat în invenție în acest sens.

Variantele constructului anticorpului conform formulărilor invenției cuprind în plus agenți tensioactivi. Moleculele de proteine pot fi susceptibile la adsorbție pe suprafețe și la denaturare și agregare consecventă la interfețele aer-lichid, solid-lichid și lichid-lichid. Aceste efecte se amplifică în general invers cu concentrația de proteine. Aceste interacțiuni dăunătoare cresc în general invers cu concentrația de proteine și de obicei sunt exacerbate de agitația fizică, cum ar fi cea generată în timpul transportului și manipulării unui produs. Surfactanții sunt utilizați în mod obișnuit pentru a preveni, minimiza sau reduce adsorbția la suprafață. Surfactanții utili din invenție în această privință includ polisorbitat 20, polisorbitat 80, alți esteri ai acizilor grași ai polietoxilaților de sorbitan și poloxamer 188. Surfactanții sunt, de asemenea, utilizați în mod obișnuit pentru a controla stabilitatea conformațională a proteinelor. Utilizarea agenților tensioactivi în acest sens este specifică proteinelor, deoarece orice agent tensioactiv dat va stabili de obicei unele proteine și le va destabiliza pe altele.

Polisorbitații sunt susceptibili la degradarea oxidativă și adesea, după cum se furnizează, conțin cantități suficiente de peroxizi pentru a provoca oxidarea lanțurilor laterale ale reziduurilor de proteine, în special a metioninei. În consecință, polisorbitații trebuie utilizați cu atenție și, atunci când sunt folosiți, trebuie utilizați la cea mai mică concentrație efectivă. În acest sens, polisorbitații exemplifică regula generală conform căreia excipienții trebuie utilizați în concentrațiile lor eficiente cele mai scăzute.

Variante ale constructului anticorpului conform formulărilor invenției cuprind în continuare unul sau mai mulți antioxidanți. Într-o oarecare măsură oxidarea dăunătoare a proteinelor poate fi prevenită în formulările farmaceutice prin menținerea nivelurilor adecvate de oxigen și temperatură ambientală și evitarea expunerii la lumină. Excipienții antioxidanți pot fi folosiți și pentru a preveni degradarea oxidativă a proteinelor. Printre antioxidanții utili în această privință se numără agenții reducători, eliminatorii de oxigen/radicali liberi și agenții de chelare. Antioxidanții pentru utilizare în formulări de proteine terapeutice în conformitate cu invenția sunt de preferință solubili în apă și își mențin activitatea pe toată durata de valabilitate a unui produs. EDTA este un antioxidant preferat în conformitate cu invenția în acest sens. Antioxidanții pot deteriora proteinele. De exemplu, agenții reducători, cum ar fi glutatoniul în special, pot perturba legăturile disulfură intramoleculare. Astfel, antioxidanții pentru utilizare în invenție sunt selectați pentru, printre altele, să elimine sau să reducă suficient posibilitatea de a se deteriora proteinele în formulare.

Formulările în conformitate cu invenția pot include ioni metalici care sunt co-factori proteici și care sunt necesari pentru a forma complecși de coordonare a proteinelor, cum ar fi zincul necesar pentru a forma anumite suspensii de insulină. Ioni metalici pot, de asemenea, inhiba unele procese care degradează proteinele. Cu toate acestea, ionii metalici catalizează și procesele fizice și chimice care degradează proteinele. Ionii de magneziu (10-120 mM) pot fi folosiți pentru a inhiba izomerizarea acidului aspartic în acid izoaspartic. Ionii  $\text{Ca}^{+2}$  (până la 100 mM) pot crește stabilitatea dezoxiribonucleazei umane.  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ , și  $\text{Zn}^{+2}$ , de altfel, pot destabiliza rhdNaza. Similar,  $\text{Ca}^{+2}$  și  $\text{Sr}^{+2}$  pot stabili Factorul VIII, poate fi destabilizat de  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  și  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  și  $\text{Fe}^{+2}$ , și agregarea sa poate fi crescută de ioni  $\text{Al}^{+3}$ .

Variantele constructului anticorpului conform formulărilor invenției cuprind în continuare unul sau mai mulți conservanți. Conservanții sunt necesari atunci când se dezvoltă formulări parenterale cu doze multiple care implică mai multe extracții din același recipient. Funcția lor principală este de a inhiba creșterea microbiană și de a asigura sterilitatea produsului pe toată durata de valabilitate sau pe durata utilizării produsului medicamentos. Conservanții utilizați în mod obișnuit includ alcoolul benzilic, fenolul și m-crezolul. Deși conservanții au o istorie lungă de utilizare cu parenteralele cu molecule mici, dezvoltarea formulărilor de proteine care includ conservanți poate fi o provocare. Conservanții au aproape întotdeauna un efect destabilizator (agregare) asupra proteinelor, iar acest lucru a devenit un factor major în limitarea utilizării lor în formulări de proteine cu doze multiple. Până în prezent, majoritatea medicamentelor proteice au fost formulate numai pentru o singură utilizare. Cu toate acestea, atunci când sunt posibile formulări cu mai multe doze, acestea au avantajul suplimentar de a permite confortul pacientului și o comercializare crescută. Un bun exemplu este cel al hormonului de creștere uman (hGH) în care dezvoltarea formulărilor conservate a condus la comercializarea unor prezentări mai convenabile, cu stilou de injecție multi uz. Cel puțin patru astfel de dispozitive stilou care conțin formulări

conservate de hGH sunt disponibile în prezent pe piață. Norditropin (lichid, Novo Nordisk), Nutropin AQ (lichid, Genentech) și Genotropin (liofilizat - cartuș cu cameră dublă, Pharmacia & Upjohn) conțin fenol în timp ce Somatropo (Eli Lilly) este formulat cu m-crezol. Mai multe aspecte trebuie luate în considerare în timpul formulării și dezvoltării formelor de dozare conservate. Concentrația eficientă de conservant în produsul medicamentos trebuie optimizată. Acest lucru necesită testarea unui conservant dat sub formă de dozare cu intervale de concentrație care conferă eficacitate antimicrobiană fără a compromite stabilitatea proteinelor.

Așa cum era de așteptat, dezvoltarea formulărilor lichide care conțin conservanți este mai dificilă decât formulările liofilizate. Produsele liofilizate pot fi liofilizate fără conservant și reconstituite cu un conservant care conține diluant în momentul utilizării. Acest lucru scurtează timpul pentru care un conservant este în contact cu proteina, minimizând semnificativ riscurile de stabilitate asociate. Cu formulările lichide, eficacitatea și stabilitatea conservanților trebuie menținute pe întreaga durată de valabilitate a produsului (aproximativ 18 până la 24 de luni). Un punct important de remarcat este că eficacitatea conservantului trebuie demonstrată în formularea finală care conține medicamentul activ și toate componentele excipientului.

Constructele de anticorp descrise aici pot fi de asemenea formulate ca imuno-lipozomi. Un "lipozom" este o veziculă mică compusă din diferite tipuri de lipide, fosfolipide și/sau surfactant care este utilă pentru livrarea unui medicament la un mamifer. Componentele lipozomului sunt aranjate în mod obișnuit într-o formațiune bistratificată, similară cu aranjamentul lipidic al membranelor biologice. Lipozomii care conțin constructul anticorpului sunt preparați prin metode cunoscute în domeniu, cum sunt descrise în Epstein și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. SUA, 82: 3688 (1985); Hwang și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. SUA, 77: 4030 (1980); brevete US Nr. 4.485.045 și 4.544.545; și WO 97/38731. Lipozomii cu timp de circulație îmbunătățit sunt dezvoltăți în brevetul US nr. 5.013, 556. Lipozomii deosebit de utili pot fi generați prin metoda de evaporare în fază inversă cu o compoziție lipidică cuprinzând fosfatidilcolină, colesterol și fosfatidiletanolamină derivată de PEG (PEG-PE). Lipozomii sunt extrudați prin filtre cu dimensiunea definită a porilor pentru a produce lipozomi cu diametrul dorit. Fragmentele Fab' din constructul anticorpului din prezenta invenție pot fi conjugate cu lipozomii așa cum este descris în Martin și colab. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982) printr-o reacție de schimb de disulfură. Un agent chimioterapeutic este opțional conținut în lipozom. Vezi Gabizon și colab. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

Odată ce compoziția farmaceutică a fost formulată, aceasta poate fi depozitată în flacoane sterile sub formă de soluție, suspensie, gel, emulsie, solid, cristal sau sub formă de pulbere deshidratată sau liofilizată. Astfel de formulări pot fi stocate fie într-o formă gata de utilizare, fie într-o formă (*de ex.*, liofilizată) care este reconstituită înainte de administrare.

Activitatea biologică a compoziției farmaceutice definite aici poate fi determinată, de exemplu, prin teste de citotoxicitate, așa cum este descris în exemplele următoare, în WO 99/54440 sau de Schlereth și colab. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). "Eficacitate" sau "eficacitate *in vivo*", așa cum se utilizează aici, se referă la răspunsul la terapie de către compoziția farmaceutică a invenției, utilizând de ex. criterii standardizate de răspuns NCI. Succesul sau eficacitatea *in vivo* a terapiei folosind o compoziție farmaceutică conform invenției se referă la eficacitatea compoziției pentru scopul propus, *adică* la capacitatea compoziției de a-și provoca efectul dorit, *adică* la epuizarea celulelor patologice, de ex. celulele tumorale. Eficacitatea *in vivo* poate fi monitorizată prin metode standard stabilite pentru entitățile respective ale bolii, incluzând, dar fără a se limita la, numărul de celule albe din sânge, diferențiale, sortarea celulelor activate cu fluorescență, aspirația măduvei osoase. În plus, pot fi utilizați diferiți parametri chimici clinici specifici bolii și alte metode standard stabilite. Mai mult, tomografie asistată de computer, raze X, tomografie cu rezonanță magnetică nucleară (de ex., pentru evaluarea răspunsului bazată pe criteriile Institutului Național al Cancerului [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Raportul unui grup de lucru internațional pentru standardizarea criteriilor de răspuns pentru limfoamele non-Hodgkin. Grupul de lucru internațional sponsorizat de NCI. J Clin Oncol. 1999 apr; 17 (4): 1244]), scanare tomografică cu emisie de pozitroni, număr de celule albe din sânge, diferențiale, sortare celulară activată cu fluorescență, aspirație a măduvei osoase, biopsii/histologii ale ganglionilor limfatici și diferiți parametri chimici clinici specifici limfomului (de ex., lactat dehidrogenază) și pot fi utilizate alte metode standard stabilite.

O altă provocare majoră în dezvoltarea medicamentelor, cum ar fi compoziția farmaceutică a invenției, este modularea previzibilă a proprietăților farmacocinetice. În acest scop, poate fi stabilit un profil farmacocinetic al medicamentului candidat, *adică* un profil al parametrilor farmacocinetici care afectează capacitatea unui anumit medicament de a trata o

afecțiune dată. Parametrii farmacocinetici ai medicamentului care influențează capacitatea unui medicament de a trata o anumită entitate de boală includ, dar nu se limitează la: timpul de înjumătățire, volumul de distribuție, metabolismul hepatic la prima trecere și gradul de legare a serului sanguin. Eficacitatea unui medicament dat poate fi influențată de fiecare dintre parametrii menționați mai sus.

„Timp de înjumătățire” înseamnă timpul în care 50% dintr-un medicament administrat sunt eliminate prin procese biologice, de ex. metabolism, excreție etc. Prin „metabolism hepatic la prima trecere” se înțelege tendința unui medicament de a fi metabolizat la primul contact cu ficatul, adică în timpul primei sale treceri prin ficat. „Volumul de distribuție” înseamnă gradul de reținere a unui medicament în diferite compartimente ale corpului, cum ar fi de ex. spații intracelulare și extracelulare, țesuturi și organe etc. și distribuția medicamentului în aceste compartimente. „Gradul de legare a serului sanguin” înseamnă tendința unui medicament de a interacționa și de a se lega de proteinele serice din sânge, cum ar fi albumina, ducând la o reducere sau pierderea activității biologice a medicamentului.

Parametrii farmacocinetici includ, de asemenea, biodisponibilitatea, timpul de întârziere (Tlag), Tmax, ratele de absorbție, debut mai mare și/sau Cmax pentru o cantitate dată de medicament administrat. „Biodisponibilitate” înseamnă cantitatea de medicament din compartimentul de sânge. „Timp de întârziere” înseamnă întârzierea dintre administrarea medicamentului și detectarea și măsurarea acestuia în sânge sau plasmă. „Tmax” este timpul după care se atinge concentrația maximă în sânge a medicamentului, iar „Cmax” este concentrația de sânge maxim obținută cu un anumit medicament. Timpul pentru atingerea unei concentrații în sânge sau țesuturi a medicamentului care este necesar pentru efectul său biologic este influențat de toți parametrii. Parametrii farmacocinetici ai constructelor de anticorpi bispecifici care prezintă specificitate încrucișată, care pot fi determinați în testarea preclinică pe animale la primatelor non-cimpanzeu, așa cum s-a subliniat mai sus, sunt, de asemenea, expuși, de ex. în publicație de Schlereth și colab. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12).

O variantă de realizare oferă constructul anticorpului conform invenției sau constructul anticorpului produs în conformitate cu procedeul invenției pentru utilizare în prevenirea, tratamentul sau ameliorarea unei boli tumorale sau canceroase sau a unei boli canceroase metastatice.

Formulările descrise aici sunt utile ca compoziții farmaceutice în tratamentul, ameliorarea și/sau prevenirea stării medicale patologice așa cum este descris aici la un pacient care are nevoie de acestea. Termenul "tratament" se referă atât la tratamentul terapeutic, cât și la măsurile profilactice sau preventive. Tratamentul include aplicarea sau administrarea formulării pe corp, un țesut izolat sau o celulă de la un pacient care are o boală/tulburare, un simptom al unei boli/tulburări sau o predispoziție către o boală/tulburare, cu scopul de a trata, vindeca, ameliora, ameliora, modifica, remedia, ameliora, îmbunătăți sau afecta boala, simptomul bolii sau predispoziția spre boală.

Termenul "ameliorare", așa cum este utilizat aici, se referă la orice îmbunătățire a stării de boală a unui pacient care are o tumoră sau cancer sau un cancer metastatic, așa cum este specificat mai jos, prin administrarea unui construct de anticorp conform invenției la un subiect care are nevoie de acesta. O astfel de îmbunătățire poate fi văzută și ca o încetinire sau oprire a progresiei p a tumorii sau a cancerului sau cancerului metastatic al pacientului. Termenul "prevenire", așa cum este utilizat aici, înseamnă evitarea apariției sau reapariției unui pacient care are o tumoră sau cancer sau un cancer metastatic, așa cum este specificat mai jos, prin administrarea unui construct de anticorp conform invenției unui subiect în nevoie de aceasta.

Termenul "boală" se referă la orice afecțiune care ar beneficia de tratamentul cu constructul anticorpului sau compoziția farmaceutică descrisă aici. Aceasta include tulburări sau boli cronice și acute, inclusiv acele condiții patologice care predispun mamiferul la boala în cauză.

Un "neoplasm" este o creștere anormală a țesutului, de obicei, dar nu întotdeauna formează o masă. Atunci când se formează și o masă, este denumită în mod obișnuit „tumoră”. Neoplasmele sau tumorile pot fi benigne, potențial maligne (precanceroase) sau maligne. Neoplasmele maligne sunt denumite în mod obișnuit cancer. De obicei, invadează și distrug țesutul înconjurător și pot forma metastaze, adică se răspândesc în alte părți, țesuturi sau organe ale corpului. Prin urmare, termenul "cancer metastatic" cuprinde metastaze la alte țesuturi sau organe decât cel al tumorii originale. Limfoamele și leucemiile sunt neoplasme limfoide. În scopul prezentei invenții, acestea sunt cuprinse, de asemenea, de termenii „tumoră” sau „cancer”.

Intr-o variantă preferată a invenției, boala tumorală sau a cancerului este selectată din grupul care include, dar nu se limitează la, (sau constă din) cancer pulmonar, de preferință SCLC, san, col uterin, colon, colorectal, endometrial, cap și gât, ficat, ovarian, pancreatic, de prostată, piele, gastric, testicul, tiroidă, suprarenal, renal, vezică urinară, uterin, esofagian, tumoră

urotelială și cerebrală sau cancer, limfom, carcinom și sarcom și o boală metastatică a cancerului derivată din oricare de mai sus.

5 Mai precis, boala tumorală sau cancer poate fi selectat din grupul constând din cancer pulmonar cu celule mici (SCLC), cancer pulmonar cu celule non-mici (NSCLC), gliom, glioblastom, melanom, cancer de prostată neuroendocrin, cancer pancreatic neuroendocrin, hepatoblastom, și carcinom hepatocelular. Boala cancerului metastatic poate fi derivată din oricare dintre cele de mai sus.

10 Termenii „subiect care are nevoie” sau cei „care au nevoie de tratament” îi include pe cei care au deja tulburare, precum și pe cei în care tulburarea trebuie prevenită. Subiectul care are nevoie sau „pacient” include subiecți umani și alte mamifere care primesc fie tratament profilactic, fie terapeutic.

15 Constructul anticorpului conform invenției va fi în general proiectat pentru căi și metode specifice de administrare, pentru dozaje și frecvențe specifice de administrare, pentru tratamente specifice bolilor specifice, cu intervale de biodisponibilitate și persistență, printre altele. Materialele compoziției sunt de preferință formulate în concentrații care sunt acceptabile pentru locul de administrare.

Formulările și compozițiile astfel pot fi proiectate în conformitate cu invenția pentru livrare pe orice cale de administrare adecvată. În contextul prezentei invenții, căile de administrare includ, dar nu se limitează la acestea

- 20 • căi topice (cum ar fi epicutane, inhalatorii, nazale, oftalmice, auriculare/auditive, vaginale, mucoase);
- căi enterale (cum ar fi oral, gastrointestinal, sublingual, sublabial, bucal, rectal); și
- 25 • căi parenterale (cum ar fi intravenoasă, intraarterială, intraosoasă, intramusculară, intracerebrală, intracerebroventriculară, epidurală, intratecală, subcutanată, intraperitoneală, extraamniotică, intraarticulară, intracardică, intradermică, intralezională, intrauterină, intravezicală, intravitreală, transdermală, intranasală, transmucozală, intrasinovială, intraluminală).

30 Compozițiile farmaceutice și constructul de anticorpi conform acestei invenții sunt utile în special pentru administrare parenterală, de ex., administrare subcutanată sau intravenoasă, de exemplu prin injecție, cum ar fi injecția în bolus, sau prin perfuzie, cum ar fi perfuzie continuă. Compozițiile farmaceutice pot fi administrate folosind un dispozitiv medical. Exemple de dispozitive medicale pentru administrarea compozițiilor farmaceutice sunt descrise în brevetele US nr. 4.475.196; 4.439.196; 4.447.224; 4.447, 233; 4.486.194; 4.487.603; 4.596.556; 4.790.824; 4.941.880; 5.064.413; 5.312.335; 5.312.335; 5.383.851; și 5.399.163.

35 În special, prezenta invenție asigură o administrare neîntreruptă a compoziției adecvate. Ca un exemplu nelimitativ, neîntrerupt sau substanțial neîntrerupt, *adică* administrarea continuă poate fi realizată de un sistem mic de pompare purtat de pacient pentru măsurarea aflului de agent terapeutic în corpul pacientului. Compoziția farmaceutică care cuprinde constructul anticorpului conform invenției poate fi administrată prin utilizarea respectivelor sisteme de pompare. Astfel de sisteme de pompare sunt în general cunoscute în domeniu și se bazează în mod obișnuit pe schimbul periodic de cartușe care conțin agentul terapeutic care trebuie perfuzat. Când se schimbă cartușul într-un astfel de sistem de pompare, poate apărea o întrerupere temporară a fluxului de altfel neîntrerupt al agentului terapeutic în corpul pacientului. Într-un astfel de caz, faza de administrare anterioară înlocuirii cartușului și faza de administrare care urmează înlocuirii cartușului ar fi totuși luate în considerare în sensul mijloacelor farmaceutice și metodelor invenției alcătuind împreună o „administrare neîntreruptă” a unui astfel de agent terapeutic.

45 Administrarea continuă sau neîntreruptă a constructelor anticorpului conform invenției poate fi intravenoasă sau subcutanată prin intermediul unui dispozitiv de livrare a fluidului sau a unui sistem de pompare mic, incluzând un mecanism de acționare a fluidului pentru a scoate fluidul dintr-un rezervor și un mecanism de acționare pentru acționarea mecanismului de acționare. Sistemele de pompare pentru administrare subcutanată pot include un ac sau o canulă pentru pătrunderea pielii unui pacient și livrarea compoziției adecvate în corpul pacientului. Respectivile sisteme de pompare pot fi fixate direct sau atașate la pielea pacientului independent de o venă, arteră sau vas de sânge, permițând astfel un contact direct între sistemul de pompare și pielea pacientului. Sistemul de pompare poate fi atașat la pielea pacientului timp de 24 de ore până la câteva zile. Sistemul de pompare poate fi de dimensiuni mici, cu un rezervor pentru volume mici. Ca exemplu nelimitativ, volumul rezervorului pentru compoziția farmaceutică adecvată care trebuie administrată poate fi între 0,1 și 50 ml.

60 Administrarea continuă poate fi, de asemenea, transdermică prin intermediul unui plastru purtat pe piele și înlocuit la intervale de timp. Un specialist în domeniu este conștient de sistemele de patch-uri pentru administrarea de medicamente adecvate în acest scop. Este de remarcat faptul că administrarea transdermică este deosebit de susceptibilă de administrare

neîntreruptă, deoarece schimbul unui prim plasture epuizat poate fi realizat în mod avantajos simultan cu plasarea unui nou, al doilea plasture, de exemplu pe suprafața pielii imediat adiacentă primului plasture epuizat, și imediat înainte de îndepărtarea primului plasture epuizat. Nu apar probleme de intrerupere a fluxului sau intreruperea celulei de alimentare.

5 Dacă compoziția farmaceutică a fost liofilizată, materialul liofilizat este mai întâi reconstituit într-un lichid adecvat înainte de administrare. Materialul liofilizat poate fi reconstituit în, de exemplu, apă bacteriostatică pentru injecție (BWHI), soluție salină fiziologică, soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) sau aceeași formulare în care se afla proteina înainte de liofilizare.

10 Compozițiile prezentei invenții pot fi administrate subiectului la o doză adecvată care poate fi determinată de ex. prin studii de creștere a dozei prin administrarea de doze crescânde ale constructului anticorpului conform invenției care prezintă specificitatea încrucișată descrisă aici la primatele care nu sunt cimpanzei, de exemplu macaci. Așa cum s-a arătat mai sus, constructul anticorpului conform invenției care prezintă specificitatea speciilor încrucișate descrisă aici poate fi utilizată în mod avantajos în formă identică în testarea preclinică la primatele non-cimpanzeu și  
15 ca medicament la om. Regimul de dozare va fi determinat de medicul curant și de factorii clinici. Așa cum este bine cunoscut în domeniul medical, dozele pentru orice pacient depind de mulți factori, inclusiv dimensiunea pacientului, suprafața corpului, vârsta, compusul care trebuie administrat, sexul, timpul și calea de administrare, starea generală de sănătate și alte medicamente fiind administrate concomitent.

20 Termenul "doză eficientă" sau "dozare eficientă" este definit ca o cantitate suficientă pentru a obține sau cel puțin parțial atingerea efectului dorit. Termenul "doză eficientă terapeutic" este definit ca o cantitate suficientă pentru a vindeca sau cel puțin parțial stoparea bolii și a complicațiilor acesteia la un pacient care suferă deja de boală. Cantitățile sau dozele eficiente pentru această utilizare vor depinde de starea de tratat (indicația), de constructul de anticorpi eliberați, de contextul terapeutic și obiective, de severitatea bolii, de terapia anterioară, de istoricul clinic al pacientului și de răspunsul la agentul terapeutic, calea de administrare, dimensiunea (greutatea corpului, suprafața corpului sau dimensiunea organului) și/sau starea (varsta și starea generală de sănătate) a pacientului și starea generală a sistemului imunitar propriu al pacientului. Doza adecvată poate fi ajustată în funcție de judecata medicului curant astfel încât să poată fi  
25 administrată pacientului o dată sau peste o serie de administrări și pentru a obține efectul terapeutic optim.

O dozare tipică poate varia de la aproximativ 0,1 μg/kg până la aproximativ 30 mg/kg sau mai mult, în funcție de factorii menționați mai sus. În realizări specifice, doza poate varia de la 1,0 μg/kg până la aproximativ 20 mg/kg, opțional de la 10 μg/kg până la aproximativ 10 mg/kg sau de  
35 la 100 μg/kg până la aproximativ 5 mg/kg.

O cantitate eficientă terapeutic dintr-un construct de anticorp conform invenției are ca rezultat, de preferință, o scădere a severității simptomelor bolii, o creștere a frecvenței sau a duratei perioadelor fără simptome a bolii sau o prevenire a afectării sau dizabilității din cauza  
40 afectării bolii. Pentru tratarea tumorilor care exprimă DLL3, o cantitate eficientă terapeutic din constructul anticorpului conform invenției, de ex. un construct de anticorp anti-DLL3/anti-CD3, de preferință inhibă creșterea celulară sau creșterea tumorii cu cel puțin aproximativ 20%, cel puțin aproximativ 40%, cel puțin aproximativ 50%, cel puțin aproximativ 60%, cel puțin aproximativ 70%, la cel puțin aproximativ 80% sau cel puțin aproximativ 90% față de pacienții netratați. Capacitatea unui compus de a inhiba creșterea tumorii poate fi evaluată într-un model animal  
45 predictiv al eficacității tumorilor umane.

Compoziția farmaceutică poate fi administrată ca singură terapeutică sau în combinație cu terapii suplimentare, cum ar fi terapiile anti-cancer, după cum este necesar, de ex. alte medicamente proteice și neproteice. Aceste medicamente pot fi administrate simultan cu compoziția care cuprinde constructul anticorpului conform invenției așa cum este definit aici sau  
50 separat înainte sau după administrarea respectivului construct de anticorp la intervale și doze definite în timp util.

Termenul "doză eficientă și non-toxică", așa cum este utilizat aici, se referă la o doză tolerabilă a unui construct de anticorp inventiv care este suficient de mare pentru a provoca epuizarea celulelor patologice, eliminarea tumorii, restrângerea tumorii sau stabilizarea bolii fără  
55 sau în esență fără efecte toxice majore. Astfel de doze eficiente și netoxice pot fi determinate de exemplu prin studii de creștere a dozei descrise în stadiul tehnicii și ar trebui să fie sub doza care să inducă evenimente adverse severe (toxicitate care limitează doza, DLT).

Termenul "toxicitate", așa cum este utilizat aici, se referă la efectele toxice ale unui medicament manifestate în evenimente adverse sau evenimente adverse severe. Aceste evenimente  
60 secundare se pot referi la o lipsă de tolerabilitate a medicamentului în general și/sau o lipsă de

toleranță locală după administrare. Toxicitatea poate include, de asemenea, efecte teratogene sau cancerigene cauzate de medicament.

Termenul "siguranță", "siguranță *in vivo*" sau "tolerabilitate" așa cum este utilizat aici definește administrarea unui medicament fără a induce evenimente adverse severe direct după administrare (toleranță locală) și pe o perioadă mai lungă de aplicare a medicamentului. „Siguranță”, „siguranță *in vivo*” sau „tolerabilitatea” pot fi evaluate de ex. la intervale regulate în timpul tratamentului și perioada de urmărire. Măsurătorile includ evaluarea clinică, de ex. manifestări ale organelor și screeningul anomaliilor de laborator. Se poate efectua evaluarea clinică și se pot înregistra/codifica abateri la constatările normale în conformitate cu standardele NCI-CTC și/sau MedDRA. Manifestările organelor pot include criterii precum alergie/imunologie, sânge/măduvă osoasă, aritmie cardiacă, coagulare și altele asemenea, așa cum este stabilit de ex. în Criteriile terminologice comune pentru evenimente adverse v3.0 (CTCAE). Parametrii de laborator care pot fi testați includ, de exemplu, hematologia, chimia clinică, profilul de coagulare și analiza urinei și examinarea altor fluide corporale precum ser, plasmă, lichid limfoid sau spinal, seroase și altele asemenea. Siguranța poate fi astfel evaluată de ex. prin examinare fizică, tehnici imagistice (adică ultrasunete, raze X, scanări CT, imagistica prin rezonanță magnetică (RMN), alte măsuri cu dispozitive tehnice (adică electrocardiogramă), semne vitale, prin măsurarea parametrilor de laborator și înregistrarea evenimentelor adverse. De exemplu, evenimentele adverse la primarele non-cimpanzeu în utilizările și metodele conform invenției pot fi examinate prin metode histopatologice și/sau histochemice.

Termenii de mai sus se mai referă *de ex.* în evaluarea preclinică a siguranței produselor farmaceutice derivate din biotehnologie S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting din 16 iulie 1997.

Intr-o altă variantă de realizare, invenția oferă un kit care cuprinde un construct de anticorp conform invenției, un construct de anticorp produs în conformitate cu procesul invenției, o polipeptidă a invenției, un vector al invenției și/sau o celulă gazdă din invenție.

În contextul prezentei invenții, termenul "kit" înseamnă două sau mai multe componente - dintre care una corespunde constructului anticorpului, compoziției farmaceutice, vectorului sau celulei gazdă a invenției - ambalate împreună într-un recipient, recipient sau în alt fel. Prin urmare, un kit poate fi descris ca un set de produse și/sau ustensile care sunt suficiente pentru a atinge un anumit obiectiv, care poate fi comercializat ca o singură unitate.

Kitul poate cuprinde unul sau mai mulți recipiente (cum ar fi flacoane, fiole, recipiente, seringi, sticle, pungi) de orice formă, dimensiune și material adecvat (de preferință impermeabil, *de ex.* plastic sau sticlă) care conține constructul anticorpului sau compoziția farmaceutică din prezenta invenție într-o doză adecvată pentru administrare (vezi mai sus). Kitul poate conține în plus instrucțiuni de utilizare (*de ex.*, sub formă de prospect sau manual de instrucțiuni), mijloace pentru administrarea constructului anticorpului din prezenta invenție, cum ar fi o seringă, pompă, infuzor sau altele asemenea, mijloace pentru reconstituirea constructului anticorpului invenției și/sau mijloacele pentru diluarea constructului anticorpului conform invenției.

Invenția furnizează, de asemenea, kituri pentru o unitate de administrare cu doză unică. Trusa conform invenției poate conține, de asemenea, un prim recipient care cuprinde un construct de anticorp uscat/lioofilizat și un al doilea recipient care cuprinde o formulare apoasă. În anumite variante ale acestei invenții, sunt furnizate kituri care conțin seringi preumplute cu o singură cameră și cu mai multe camere (*de ex.*, seringi cu lichid și lioseringi).

#### 45 **Figurile arată:**

**Figura 1** Reprezentarea schematică a constructelor DLL3 ECD/DLL3 trunchiate exprimate pe celule CHO pentru maparea epitopului. Transmembrana și domeniul intracelular sunt derivate din EpCAM. Vezi Exemplul 1.

50 **Figura 2** Cartarea epitopului constructelor anticorpilor anti-DLL3. Exemple de constructe de anticorpi bispecifici care recunosc domeniul EGF-3 și, respectiv, domeniul EGF-4, așa cum sunt detectate prin maparea epitopului. Axa x descrie PE-A (PE = ficoeritrina, A = zona semnalului), iar axa y prezintă numărul. Vezi Exemplul 2.

55 **Figura 3** Reactivitatea încrucișată a constructelor anticorpilor anti-DLL3 detectată prin citometrie în flux: legare la DLL3 și CD3 umane și de macac. Axa x descrie FL2-H, iar axa y reprezintă numărul. Vezi Exemplul 5.

**Figura 4** Analiza constructelor de anticorpi anti-DLL3 prin citometrie în flux: fără legare la paralogii umani DLL1 și DLL4. Axa x descrie FL1-H, iar axa y reprezintă numărul. Vezi Exemplul 6.

60 **Figura 5** Stabilitatea constructelor anticorpilor anti-DLL3 după incubare timp de 96 de ore în plasmă umană. Vezi Exemplul 11.

**Figura 6** Decalajul de potență între izoforma monomerică și dimerică a constructelor anticorpului anti-DLL3. Vezi Exemplul 15.

**Figura 7** Test de internalizare *in vitro*, efectuat așa cum este descris în Exemplul 16. Constructul anticorpului a fost pre-incubat pe celulele țintă (SHP-77) în absența celulelor T pentru a măsura pierderea constructului anticorpului datorită internalizării. Rezultatele sugerează că nu are loc o internalizare semnificativă. Rezultatele obținute cu o țintă de control care este bine cunoscută pentru internalizarea sa sunt prezentate pentru comparație în partea dreaptă.

**Figura 8** Rezultatele studiului de eficiență a xenogrefei de șoarece la modelul SHP-77 (Fig. 8A) și modelul WM266-4 (Figura 8B). Volumul tumorii este reprezentat grafic în funcție de timp. Vezi Exemplul 18.

**Figura 9** Farmacocinetica diferitelor constructe de anticorpi HLE (fuziunea albuminei din Fig. 9A și fuziunile Fc din Fig. 9B) așa cum se determină în Exemplul 20.

#### Example:

Următoarele exemple ilustrează invenția. Aceste exemple nu ar trebui interpretate ca limitand scopul acestei invenții. Prezenta invenție este limitată numai de revendicări.

#### Exemplul 1

##### Generarea de celule CHO care exprimă tipul sălbatic și DLL3 trunchiat

Domeniul extracelular al antigenului DLL3 poate fi împărțit în diferite subdomenii sau regiuni care sunt definite, în sensul Exemplelor 1 și 2, de următoarele poziții ale aminoacizilor:

Peptida semnal: 1-26

N-terminal: 27-175

DSL: 176-215

EGF-1: 216-249

EGF-2: 274-310

EGF-3: 312-351

EGF-4: 353-389

EGF-5: 391-427

EGF-6: 429-465

Pentru constructul moleculelor trunchiate DLL3 utilizate pentru cartarea epitopului, secvențele celor opt domenii extracelulare respective (peptida semnal plus N-terminal, DSL, EGF1, EGF2, EGF3, EGF4, EGF5 și EGF6) ale DLL3 umane au fost șterse treptat din antigen, începând de la capătul N-terminal. Au fost generate următoarele molecule; vezi și Figura 1:

|                               |                 |
|-------------------------------|-----------------|
| • Hu DLL3 ECD/ECD complet     | SECV ID NR: 263 |
| • Hu DLL3 ECD/până la DSL     | SECV ID NR: 264 |
| • Hu DLL3 ECD/ până la EGF-1  | SECV ID NR: 265 |
| • Hu DLL3 ECD/până la EGF-2   | SECV ID NR: 266 |
| • Hu DLL3 ECD/până la EGF-3   | SECV ID NR: 267 |
| • Hu DLL3 ECD / până la EGF-4 | SECV ID NR: 268 |
| • Hu DLL3 ECD/până la EGF-5   | SECV ID NR: 269 |
| • Hu DLL3 ECD/numai EGF-6     | SECV ID NR: 270 |

Pentru generarea de celule CHO care exprimă macacul *cynomolgus*, uman ("cyno") și DLL3 marcat cu N-terminal V5 trunchiat uman, secvențele de codare respective pentru DLL3-ECD uman (SECV ID NR.: 253; vezi și numărul de acces GeneBank NM\_016941), cyno DLL3-ECD (ID SECV NR.: 272) și cele șapte versiuni DLL3-ECD marcate cu N-terminal V5 uman trunchiat (vezi mai sus) au fost clonate într-o plasmidă denumită pEF-DHFR (pEF-DHFR este descris în Raum și colab. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150). Pentru expresia la suprafața celulară a DLL3 umane și cyno, s-a folosit peptida semnal originală și pentru expresia suprafeței celulare a DLL3 N-terminal trunchiat uman s-a utilizat o peptidă semnal cu lanț greu IgG de șoarece, urmată de o etichetă V5. Toate secvențele DLL3-ECD menționate au fost urmate în cadru de secvența de codificare a unui linker Ser/Gly artificial urmat de un domeniu derivat din domeniul transmembranar/intracelular al EpCAM uman (aminoacizii 266-314 ai secvenței publicate în accesarea GenBank număr NM\_002354). Toate procedurile de clonare au fost efectuate conform protocoalelor standard (Sambrook, Molecular Cloning; A Laboratory Manual, ediția a 3-a, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (2001)). Pentru fiecare construct, o plasmidă corespunzătoare a fost transfectată în celule CHO cu deficit de DHFR

pentru expresie eucariotă, așa cum este descris de Kaufman R.J. (1990) Metode Enzymol. 185, 537-566.

Expresia DLL3 umană și cyno pe celulele CHO a fost verificată într-un test FACS utilizând un anticorp DLL3 anti-uman IgG2b monoclonal de șoarece. Expresia celor șapte versiuni trunchiate ale DLL3-ECD umană a fost verificată folosind un anticorp anti-v5 de tip IgG2a monoclonal de șoarece. Anticorpul monoclonal legat a fost detectat cu un IgG anti-șoarece Fc-gamma-PE. Ca martor negativ, celulele au fost incubate cu anticorp de control izotip în locul primului anticorp. Probele au fost măsurate prin citometrie în flux.

### **Exemplul 2**

#### **10 Cartarea epitopului constructelor de anticorpi anti-DLL3**

Celulele transfectate cu DLL3 uman și cu moleculele DLL3 umane trunchiate (vezi Exemplul 1) au fost colorate cu extract brut periplasmic nediluat care conține constructe de anticorp bispecific DLL3xCD3 (cu domeniul de legare CD3 fiind denumit 12C) fuzionate cu o albumină umană (variante 1), în PBS/1,5% FCS. Moleculele legate au fost detectate cu un anticorp de domeniu de legare monoclonal anti-CD3 de șoarece (50  $\mu$ l) urmat de un IgG anti-șoarece Fc-gamma-PE (1: 100, 50  $\mu$ l; Jackson ImmunoResearch # 115-116-071) Toți anticorpii au fost diluați în PBS/1,5% FCS. Ca martor negativ, celulele au fost incubate cu PBS/2% FCS în locul extractului periplasmic. Probele au fost măsurate prin citometrie în flux.

Regiunile care au fost recunoscute de domeniile de legare DLL3 respective sunt indicate în tabelul de secvențe (Tabelul 18). Lianții au fost mapați care erau specifici pentru un epitop situat în capătul N-terminal al DLL3, în domeniul DSL și în diferitele domenii EGF.

Figura 2 prezintă doi lianți exemplari care se leagă de un epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3 (pierderea semnalului FACS în respectivele constructe trunchiate DLL3 care nu cuprind EGF-3). Figura 2 arată, de asemenea, un liant exemplar care se leagă la un epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3 (pierderea semnalului FACS în constructele DLL3 trunchiate respective care nu conțin EGF-4).

Unii dintre lianți sunt descriși ca fiind specifici unui epitop situat în regiunea denumită EGF-5/[6]. Parantezele pătrate sunt menite să indice că semnalul FACS al liantului este scăzut (*adică* nici complet prezent, nici complet pierdut) pentru constructul DLL3 trunchiat având doar domeniul EGF-6 rămas (ultimul construct din Figura 1).

Constructele bispecifice DLL3xCD3 utilizate în exemplele următoare sunt alese dintre acele constructe având „12C” ca domeniu de legare CD3 și având o fuziune C-terminală cu o albumină serică umană de tip sălbatic, vezi de ex. SECV ID NR: 224-230, 233-235, 238-241.

### **Exemplul 3**

#### **35 Determinarea bazată pe biacore a afinității anticorpilor pentru DLL3 uman și cynomolgus.**

Experimentele de analiză Biacore au fost efectuate folosind proteine de fuziune DLL3-ECD umane/cyno recombinante cu albumină de pui pentru a determina legarea țintei constructelor de anticorpi conform invenției.

În detaliu, cipurile senzorului CM5 (GE Healthcare) au fost imobilizate cu aproximativ 600-800 RU din antigenul recombinant respectiv folosind tampon acetat pH 4,5 conform manualului producătorului. Probele de construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 au fost încărcate în serii de diluție de următoarele concentrații: 50 nM, 25 nM, 12,5 nM, 6,25 nM și 3,13 nM diluate în tampon de funcționare HBS-EP (GE Healthcare). Debitul a fost de 30  $\mu$ l/min timp de 3 min, apoi tamponul de funcționare HBS-EP a fost aplicat din nou timp de 8 min până la 20 min la un debit de 30  $\mu$ l/ml. Regenerarea cipului a fost efectuată utilizând 10 mM glicină 10 mM soluție NaCl pH 1,5. Seturile de date au fost analizate folosind software-ul BiaEval. În general s-au efectuat două experimente independente.

Constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției au arătat afinități foarte mari față de DLL3 uman în domeniul subnanomolar (cu excepția DLL3-13 având o valoare KD în domeniul nanomolar foarte scăzut cu o unitate). Legarea la DLL3 de macac a fost echilibrată, prezentând și afinități în intervale similare. Valorile de afinitate, precum și decalajul de afinitate calculat sunt prezentate în Tabelul 2.

**Tabelul 2:** Afinitățile constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 la DLL3 uman și de macac, determinate prin analiza Biacore, precum și decalările de afinitate interspecifice calculate.

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | KD hu DLL3 [nM] | KD cyno DLL3 [nM] | Decalaj de afinitate KD mac/KD hu |
|-------------------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------------|
| DLL3-4                                    | 0,41            | 0,55              | 1,34                              |
| DLL3-5                                    | 0,82            | 1,03              | 1,26                              |

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | KD hu DLL3 [nM] | KD cyno DLL3 [nM] | Decalaj de afinitate KD mac/KD hu |
|-------------------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------------|
| DLL3-6                                    | 0,55            | 0,75              | 1,36                              |
| DLL3-7                                    | 0,19            | 0,29              | 1,52                              |
| DLL3-8                                    | 0,69            | 0,96              | 1,39                              |
| DLL3-9                                    | 0,35            | 0,54              | 1,54                              |
| DLL3-10                                   | 0,24            | 0,33              | 1,38                              |
| DLL3-13                                   | 1,74            | 5,55              | 3,19                              |
| DLL3-14                                   | 0,47            | 0,86              | 1,83                              |
| DLL3-15                                   | 0,45            | 0,69              | 1,53                              |

Mai mult, legarea constructelor anticorpului bispecific atat la CD3 uman cat și la CD3 de macac a fost confirmată într-un test Biacore într-un interval nanomolar redus de 2 cifre (datele nu sunt prezentate).

#### 5 Exemplul 4

**Analiza bazată pe Scatchard a afinității constructului anticorpului bispecific DLL3xCD3 cu DLL3 uman și de macac pe celulele țintă de antigen pozitive și determinarea decalajului de afinitate interspecific**

10 Afinitățile constructelor de anticorp bispecific DLL3xCD3 la celulele CHO transfectate cu DLL3 uman sau de macac au fost, de asemenea, determinate prin analiza Scatchard ca cea mai fiabilă metodă de măsurare a decalajelor de afinitate potențiale între DLL3 uman și de macac. Pentru analiza Scatchard, experimentele de legare a saturației sunt efectuate folosind un sistem de detectare monovalentă pentru a determina cu precizie legarea monovalentă a constructelor de anticorp bispecific DLL3xCD3 la linia celulară respectivă.

15 2 x 10<sup>4</sup> celule din linia celulară respectivă (linia celulară CHO care exprimă DLL3 recombinant umană, linia celulară CHO care exprimă DLL3 de macac recombinant) au fost incubate fiecare cu 50 μl dintr-o serie de diluție în tripletă (doisprezece diluții la 1: 2) din constructul de anticorp bispecific DLL3xCD3 (până se ajunge la saturație) începând de la 10-20 nM urmată de 16 ore de incubare la 4°C sub agitare și o etapă de spălare reziduală. Apoi, celulele au fost incubate încă o oră cu 30 μl dintr-o soluție conjugată CD3xALEXA488. După o etapă de spălare, celulele au fost resuspendate în 150 μl tampon FACS conținând 3,5% formaldehidă, incubate încă 15 minute, centrifugate, resuspendate în tampon FACS și analizate folosind o mașină Cantoll FACS și software-ul FACS Diva. Datele au fost generate din două seturi independente de experimente, fiecare folosind triplicate. Analiza respectivă Scatchard a fost calculată pentru a extrapola legarea maximă (B<sub>max</sub>). Concentrațiile de constructe de anticorp bispecific DLL3xCD3 la legarea a jumătate din maxim au fost determinate reflectând KD-urile respective. Valorile măsurătorilor triplicate au fost reprezentate grafic sub formă de curbe hiperbolice și sub formă de curbe în formă de S pentru a demonstra variații de concentrație adecvate de la legarea minimă la cea optimă.

30 Valorile descrise în Tabelul 3 au fost derivate din două experimente independente pentru fiecare construct de anticorp bispecific DLL3xCD3. Analiza Scatchard bazată pe celule a confirmat faptul că constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției sunt subnanomolare în afinitate la DLL3 uman și la DLL3 de macac și prezintă un decalaj mic de afinitate interspecii cyno/umană în jurul a 1.

35 **Tabelul 3:** Afinitățile (KD) ale constructelor anticorpilor bispecifici DLL3xCD3 așa cum s-a determinat în analiza Scatchard bazată pe celule cu decalajul de afinitate calculat KD de macac DLL3/KD DLL3 uman. Constructele anticorpului au fost măsurate în două experimente independente, fiecare folosind triplicate.

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Afinitate bazată pe celule hu DLL3 [nM] | Afinitate pe bază de celule mac DLL3 [nM] | Decalaj de afinitate KD mac/KD hu |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------|
| DLL3-4                                    | 0,39                                    | 0,24                                      | 0,6                               |
| DLL3-5                                    | 0,33                                    | 0,22                                      | 0,7                               |

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Afinitate bazată pe celule hu DLL3 [nM] | Afinitate pe bază de celule mac DLL3 [nM] | Decalaj de afinitate mac/KD hu |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------|
| DLL3-6                                    | 0,33                                    | 0,23                                      | 0,7                            |
| DLL3-7                                    | 0,21                                    | 0,33                                      | 1,6                            |
| DLL3-8                                    | 0,18                                    | 0,34                                      | 1,9                            |
| DLL3-9                                    | 0,30                                    | 0,49                                      | 1,6                            |
| DLL3-10                                   | 0,37                                    | 0,32                                      | 0,8                            |
| DLL3-13                                   | 0,24                                    | 0,29                                      | 1,2                            |
| DLL3-14                                   | 0,53                                    | 0,51                                      | 1,0                            |
| DLL3-15                                   | 0,25                                    | 0,50                                      | 2,0                            |

### Exemplul 5

#### Legare bispecifică și reactivitate încrucișată între specii

- Pentru confirmarea legării la DLL3 și CD3 uman și la DLL3 și CD3 cyno, constructele de anticorpi bispecifici conform invenției au fost testați prin citometrie în flux folosind
- celulele CHO transfectate cu DLL3 uman, cu o izoformă DLL3 umană artificială (caracterizată prin mutațiile punctuale F172C și L218P) și, respectiv, cu DLL3 de macac,
  - linia celulară de carcinom uman pulmonar DLL3 pozitiv SHP-77,
  - Linia celulară de leucemie cu celule T umane care exprimă CD3 HPB-all (DSMZ, Braunschweig, ACC483) și
  - linia de celule T care exprimă CD3 cynomolgus LnPx 4119

- Pentru citometrie în flux, 200.000 de celule din liniile celulare respective au fost incubate timp de 60 min la 4°C cu 50 µl de anticorp bispecific purificat la o concentrație de 5 µg/ml. Celulele au fost spălate de două ori în PBS/2% FCS și apoi incubate cu un anticorp intern de soarece (2 µg/ml) specific pentru partea de legare CD3 a constructelor anticorpilor bispecifici timp de 30 de minute la 4°C. După spălare, anticorpii de soarece legați au fost detectați cu un Fcy-PE anti-soarece de capră (1: 100) timp de 30 de minute la 4°C. Probele au fost măsurate prin citometrie în flux. Celulele CHO netransfectate au fost utilizate ca martor negativ.

- Rezultatele sunt prezentate în Figura 3. Constructele de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 conform invenției au colorat celule CHO transfectate cu DLL3 uman, izoforma DLL3 artificială și cu DLL3 cyno și au colorat, de asemenea, linia celulară SHP-77 de carcinom uman pulmonar DLL3 pozitiv uman (expresor natural). Liniile de celule umane și cyno T care exprimă CD3 au fost, de asemenea, recunoscute de constructele de anticorpi bispecifici. Mai mult, nu a existat nici o colorare a celulelor de control negative (CHO netransfectat, date prezentate în Exemplul 6).

### Exemplul 6

#### Confirmarea absenței legării la paralogii umani

- Paralogii DLL3 umani DLL1 și DLL4 au fost transfectați stabil în celule CHO. Secvențele paralogilor utilizate în prezentul exemplu sunt identificate în listarea secvenței (SEC V ID NR.: 283 și 284). Expresia proteinelor a fost confirmată în analizele FACS cu anticorpi specifici pentru paralogii respectivi: Anticorpii au fost DLL1 MAB1818 anti-uman (R&D; 5 µg/ml), și DLL4 MAB1506 anti-uman (R&D; 5 µg/ml) pentru DLL4.

- Testul de citometrie în flux a fost efectuat așa cum este descris în Exemplul 5, cu excepția faptului că anticorpii de soarece legați au fost detectați cu un FITC anti-soarece de capră (1:100). Rezultatele sunt prezentate în Figura 4. Analiza a confirmat că niciunul dintre anticorpii bispecifici DLL3xCD3 din invenție nu reacționează încrucișat cu paralogii DLL3 umani DLL1 și DLL4.

### Exemplul 7

#### Identitate la linia germinală umană

- Pentru a analiza identitatea/similitudinea secvenței constructelor anticorpului cu genele germinale ale anticorpului uman, domeniile de legare DLL3 conform invenției au fost aliniate după cum urmează: VL complet, inclusiv toate CDR-urile, a fost aliniat; VH complet incluzând CDR-urile 1 și 2, dar cu excepția CDR3 a fost aliniat cu genele germinale ale anticorpilor umani (Vbaza). Mai multe detalii găsiți în specificațiile acestei aplicații. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 4 de mai jos:

**Tabelul 4:** Identitatea VH și VL cu linia germinativă umană

| Construct de anticorp bispecific<br>DLL3xCD3 | % identitate la linia germinativă umană<br>[VH/VL] |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| DLL3-4                                       | 96,9/93,3                                          |
| DLL3-5                                       | 96,9/96,6                                          |
| DLL3-6                                       | 96,9/96,6                                          |
| DLL3-7                                       | 93,9/96,6                                          |
| DLL3-8                                       | 94,8/96,6                                          |
| DLL3-9                                       | 96,9/95,5                                          |
| DLL3-10                                      | 91,9/95,5                                          |
| DLL3-13                                      | 95,9/95,7                                          |
| DLL3-14                                      | 94,9/94,6                                          |
| DLL3-15                                      | 93,9/94,6                                          |

**Exemplul 8****Activitate citotoxică**

- Potența constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției în redirecționarea celulelor T efectoare împotriva celulelor țintă care exprimă DLL3 a fost analizată în cinci teste de citotoxicitate *in vitro*:
- Potența constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 în redirecționarea celulelor T efectoare CD8+ umane stimulate împotriva celulelor CHO transfectate DLL3 umane a fost măsurată într-un test de eliberare a cromului 51 în 18 ore.
  - Potența constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 în redirecționarea celulelor T efectoare CD8+ umane stimulate împotriva liniei celulare a carcinomului pulmonar uman DLL3 pozitiv SHP-77 a fost măsurată într-un test de eliberare de de crom 51 de 18 ore.
  - Potența constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 în redirecționarea celulelor T în PBMC uman nestimulat împotriva celulelor CHO transfectate cu DLL3 uman a fost măsurată într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS de 48 de ore.
  - Potența constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 în redirecționarea celulelor T în PBMC uman nestimulat împotriva liniei de celule umane DLP-pozitive SHP-77 a fost măsurată într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS de 48 de ore.
  - Pentru confirmarea faptului că constructele de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 cu reacție încrucișată sunt capabile să redirecționeze celulele T de macac împotriva celulelor CHO transfectate cu DLL3 de macac, s-a efectuat un test de citotoxicitate bazat pe FACS de 48 de ore cu o linie de celule T de macac ca celule T efectoare.

**Exemplul 8.1****Test de eliberare a cromului cu celule T umane stimulate**

- Celulele T stimulate îmbogățite pentru celulele T CD8<sup>+</sup> au fost obținute așa cum este descris în cele ce urmează. O cutie Petri (145 mm diametru, Greiner bio-one GmbH, Kremsmünster) a fost acoperită cu un anticorp specific anti-CD3 disponibil comercial (OKT3, Orthoclone) într-o concentrație finală de 1 μg/ml timp de 1 oră la 37°C. Proteina nelegată a fost îndepărtată printr-o etapă de spălare cu PBS. 3 - 5 x10<sup>7</sup> PBMC uman au fost adăugate la placa Petri preacoperită în 120 ml RPMI 1640 cu glutamină stabilizată/10% FCS/IL-2 20 U/ml (Proleukin®, Chiron) și stimulate timp de 2 zile. În a treia zi, celulele au fost colectate și spălate o dată cu RPMI 1640. IL-2 a fost adăugat la o concentrație finală de 20 U/ml și celulele au fost cultivate din nou timp de o zi în același mediu de cultură celulară ca mai sus. limfocite T citotoxice CD8<sup>+</sup> (CTL) au fost îmbogățite prin depleție cu celule T CD4<sup>+</sup> și celule NK CD56<sup>+</sup> utilizând Dynal-Beads conform protocolului producătorului.

- Celulele țintă CHO transfectate cu DLL3 Cyno sau DLL3 uman au fost spălate de două ori cu PBS și marcate cu 11,1 MBq <sup>51</sup>Cr într-un volum final de 100 μl RPMI cu 50% FCS timp de 60 minute la 37°C. Ulterior, celulele țintă marcate au fost spălate de 3 ori cu 5 ml RPMI și apoi utilizate în testul de citotoxicitate. Testul a fost efectuat într-o placă cu 96 de godeuri într-un volum total de 200 μl RPMI suplimentat cu un raport E: T de 10: 1. S-a utilizat o concentrație inițială de 0,01 - 1 μg/ml de anticorp bispecific purificat și diluții de trei ori ale acestuia. Timpul de incubare pentru test a fost de 18 ore. Citotoxicitatea a fost determinată ca valori relative ale cromului eliberat în supernatant în raport cu diferența de liză maximă (adăugarea de Triton-X) și

liză spontană (fără celule efectoare). Toate măsurătorile au fost efectuate în patru exemplare. Măsurarea activității cromului în supernatante a fost efectuată într-un contor gamma Wizard 3" (Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Köln, Germania). Analiza rezultatelor a fost efectuată cu Prism 5 pentru Windows (versiunea 5.0, GraphPad Software Inc., San Diego, California, SUA).

5 Valori EC50 calculate prin programul de analiză din curbele sigmoide de răspuns la doză au fost utilizate pentru compararea activității citotoxice.

### **Exemplul 8.2**

#### **Potența de redirecționare a celulelor T efectoare umane stimulate împotriva celulelor CHO transfectate cu DLL3 umane**

10 Activitatea citotoxică a constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 conform invenției a fost analizată într-un test de citotoxicitate cu eliberare de crom 51 ( $^{51}\text{Cr}$ ) folosind celule CHO transfectate cu DLL3 uman ca celule țintă și a stimulat celulele T CD8+ umane ca celule efectoare. Experimentul a fost realizat așa cum este descris în Exemplul 8.1.

15 Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 5. Constructele de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 au arătat o activitate citotoxică foarte puternică împotriva celulelor CHO transfectate cu DLL3 umane în intervalul picomolar de 1 cifră.

**Tabelul 5:** Valorile EC50 [pM] ale constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 analizate într-un test de citotoxicitate eliberează 51-crom ( $^{51}\text{Cr}$ ) utilizând celule CHO transfectate cu DLL3 uman ca celule țintă și au stimulat celulele T CD8 umane ca celule efectoare.

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | EC50 [pM] |
|-------------------------------------------|-----------|
| DLL3-4                                    | 3,8       |
| DLL3-5                                    | 4,2       |
| DLL3-6                                    | 2,1       |
| DLL3-7                                    | 2,2       |
| DLL3-8                                    | 1,2       |
| DLL3-9                                    | 1,2       |
| DLL3-10                                   | 1,4       |
| DLL3-13                                   | 1,8       |
| DLL3-14                                   | 5,4       |
| DLL3-15                                   | 9,8       |

20

### **Exemplul 8.3**

#### **Potența de redirecționare a celulelor T efectoare umane stimulate împotriva liniei celulare SHP-77 a carcinomului pulmonar uman DLL3 pozitiv**

25 Activitatea citotoxică a constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 a fost analizată într-un test de citotoxicitate cu eliberare a 51-crom ( $^{51}\text{Cr}$ ) utilizând linia celulară SHP-77 de carcinom pulmonar uman pozitiv DLL3 ca sursă de celule țintă și a stimulat celulele T CD8 + umane ca celule efectoare. Testul a fost efectuat așa cum este descris în Exemplul 8.1.

30 În conformitate cu rezultatele testelor de eliberare a crom 51 cu limfocite T CD8 + umane îmbogățite stimulate ca celule efectoare și celule CHO transfectate DLL3 umane ca celule țintă, constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 ale prezentei invenții sunt, de asemenea, puternice în activitatea citotoxică împotriva celulelor expresorului natural țintă (vezi Tabelul 6).

**Tabel 6:** Valori EC50 [pM] ale constructelor de anticorp bispecific DLL3xCD3 analizate în test de citotoxicitate cu eliberare de crom 51 ( $^{51}\text{Cr}$ ) în 18 ore cu linie de celule SHP-77 de carcinom pulmonar uman pozitiv DLL3 ca sursă de celule țintă, și celule T CD8 îmbogățite stimulat umane ca celule efectoare.

Rândurile 1-10: Constructe de anticorp conform invenției, care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiune cum s-a descris în SEC'V ID NR. 260. (Rândurile 1-7: constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3. Rândurile 8-10: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-4) Rândurile 11-14: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-5/[EGF-6].

| Rând | Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | EC50 [pM] |
|------|-------------------------------------------|-----------|
| 1    | DLL3-4                                    | 27        |
| 2    | DLL3-5                                    | 26        |
| 3    | DLL3-6                                    | 18        |
| 4    | DLL3-7                                    | 23        |
| 5    | DLL3-8                                    | 39        |
| 6    | DLL3-9                                    | 18        |
| 7    | DLL3-10                                   | 31        |
| 8    | DLL3-13                                   | 22        |
| 9    | DLL3-14                                   | 31        |
| 10   | DLL3-15                                   | 36        |
| 11   | DLL3-18                                   | 38        |
| 12   | DLL3-19                                   | 142       |
| 13   | DLL3-20                                   | 171       |
| 14   | DLL3-21                                   | 324       |

#### **Exemplul 8.4**

##### **Test de citotoxicitate bazat pe FACS cu PBMC uman nestimulat Izolarea celulelor efectoare**

- 5 Celulele mononucleare din sangele periferic uman (PBMC) au fost preparate prin centrifugare cu gradient de densitate Ficoll din preparate de limfocite îmbogățite (straturi tamponate), un produs secundar al băncilor de sânge care colectează sânge pentru transfuzii. Straturile Buffy au fost furnizate de o bancă locală de sânge, iar PBMC au fost preparate în aceeași zi de recoltare a sângelui. După centrifugarea densității Ficoll și spălări extinse cu PBS Dulbecco
- 10 (Gibco), eritrocitele rămase au fost îndepărtate din PBMC prin incubare cu tampon de liză eritrocitară (155 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 10 mM  $\text{KHCO}_3$ , 100  $\mu\text{M}$  EDTA). Trombocitele au fost îndepărtate prin supernatant la centrifugarea PBMC la 100 x g. Limfocitele rămase cuprind în principal limfocitele B și T, celulele NK și monocitele. PBMC s-au păstrat în cultură la 37°C/5%  $\text{CO}_2$  în mediu RPMI (Gibco) cu 10% FCS (Gibco).
- 15 **Depleția celulelor  $\text{CD14}^+$  și  $\text{CD56}^+$**   
Pentru epuizarea celulelor  $\text{CD14}^+$ , s-au folosit MicroBeads  $\text{CD14}$  umane (Milteny Biotec, MACS, # 130-050-201), pentru epuizarea celulelor NK  $\text{CD56}$  MicroBeads umane (MACS, # 130-050-401). PBMC au fost numărate și centrifugate timp de 10 minute la temperatura camerei cu 300 x g. Supernatantul a fost aruncat și peleta de celule resuspendată în tampon de izolare MACS [80  $\mu\text{L}/10^7$  celule; PBS (Invitrogen, # 20012-043), 0,5% (v/v) FBS (Gibco, # 10270-106), 2 mM EDTA (Sigma-Aldrich, # E-6511)].  $\text{CD14}$  MicroBeads și  $\text{CD56}$  MicroBeads (20  $\mu\text{L}/10^7$  celule) au fost adăugate și incubate timp de 15 minute la 4 - 8°C. Celulele au fost spălate cu tampon de izolare MACS (1-2  $\text{mL}/10^7$  celule). După centrifugare (vezi mai sus), supernatantul a fost aruncat și celulele resuspendate în tampon de izolare MACS (500  $\mu\text{L}/10^8$  celule). Celulele negative  $\text{CD14}/\text{CD56}$  au fost apoi izolate folosind coloane LS (Miltenyi Biotec, # 130-042-401). PBMC fără celule  $\text{CD14}^+/\text{CD56}^+$  au fost cultivate în mediu complet RPMI adică RPMI1640 (Biochrom
- 25

AG, # FG1215) suplimentat cu 10% FBS (Biochrom AG, # S0115), 1x aminoacizi neesențiali (Biochrom AG, # K0293), Tampon 10 mM Hepes (Biochrom AG, # L1613), piruvat de sodiu 1 mM (Biochrom AG, # L0473) și 100 U/ml penicilină/streptomicină (Biochrom AG, # A2213) la 37°C într-un incubator după necesar.

#### 5 Etichetarea celulei țintă

Pentru analiza lizei celulare în testele de citometrie în flux, colorantul cu membrană fluorescentă DiOC<sub>18</sub> (DiO) (Molecular Probes, # V22886) a fost utilizat pentru a eticheta celulele CHO transfectate DLL3-umane sau de macac DLL3 ca celule țintă și să le distingă de celulele efectoare. Pe scurt, celulele au fost recoltate, spălate o dată cu PBS și ajustate la 10<sup>6</sup> celule/ml în PBS conținând 2% (v/v) FBS și colorantul membranar DiO (5 μl/10<sup>6</sup> celule). După incubare timp de 3 minute la 37°C, celulele au fost spălate de două ori în mediu RPMI complet și numărul de celule ajustat la 1,25 x 10<sup>5</sup> celule/ml. Vitalitatea celulelor a fost determinată folosind 0,5% (v/v) soluție izotonică de EosinG (Roth, # 45380).

#### Analiza bazată pe citometrie de flux

15 Această analiză a fost concepută pentru a cuantifica liza celulelor CHO transfectate cu DLL3 cyno sau umane în prezența diluțiilor seriale ale constructelor de anticorpi bispecfici DLL3. Au fost amestecate volume egale de celule țintă marcate cu DiO și celule efectoare (adică PBMC w/o celule CD14<sup>+</sup>), rezultând un raport de celule E:T de 10:1. 160 μl din această suspensie au fost transferate în fiecare godeu al unei plăci cu 96 de godeuri. S-au adăugat 40 μl de diluții seriale ale constructelor de anticorp bispecific DLL3xCD3 și un control negativ bispecific (un construct de anticorp bispecific bazat pe CD3 care recunoaște un antigen țintă irelevantă) sau mediu complet RPMI ca un control negativ suplimentar. Reacția citotoxică mediata de anticorpi bispecfici a continuat timp de 48 de ore într-un incubator umidificat cu 7% CO<sub>2</sub>. Apoi celulele au fost transferate pe o nouă placă cu 96 de godeuri și pierderea integrității membranei celulare țintă a fost monitorizată prin adăugarea de iodură de propidiu (PI) la o concentrație finală de 1 μg/ml. PI este un colorant impermeabil la membrană care în mod normal este exclus din celulele viabile, în timp ce celulele moarte îl preiau și devin identificabile prin emisie fluorescentă.

25 Probele au fost măsurate prin citometrie de flux pe un instrument FACSCanto II și analizate prin software-ul FACSDiva (ambele de la Becton Dickinson). Celulele țintă au fost identificate ca fiind celule DiO-pozitive. Celulele țintă PI-negative au fost clasificate drept celule țintă vii. Procentul de citotoxicitate a fost calculat conform următoarei formule:

$$\text{Citotoxicitate [\%]} = \frac{n_{\text{celule țintă moarte}}}{n_{\text{celule țintă}}} \times 100$$

n = numărul de evenimente

35 Folosind software-ul GraphPad Prism 5 (Graph Pad Software, San Diego), procentul de citotoxicitate a fost reprezentat în funcție de concentrațiile corespunzătoare de constructe de anticorpi bispecfici. Curbele de răspuns la doză au fost analizate cu cele patru modele de regresie logistică parametrică pentru evaluarea curbelor de răspuns la doză sigmoidă cu panta fixă pe vârf și au fost calculate valorile EC50.

#### Exemplul 8.5

#### 40 Potența de redirectionare a PBMC uman nestimulat împotriva celulelor CHO transfectate DLL3 umane

45 Activitatea citotoxică a constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 a fost analizată într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS utilizând celule CHO transfectate cu DLL3 uman ca celule țintă și PBMC uman nestimulat ca celule efectoare. Testul a fost efectuat așa cum este descris în Exemplul 8.4 de mai sus.

Rezultatele testelor de citotoxicitate bazate pe FACS cu PBMC uman nestimulat ca celule efectoare și celule CHO transfectate DLL3 umane ca ținte sunt prezentate în Tabelul 7.

**Tabel 7:** Valori EC50 [pM] ale construcțiilor de anticorp bispecific măsurat în 48 ore în testul de citotoxicitate bazat pe FACS cu PBMC uman nestimulat ca celule efectoare și celule CHO transfectate cu DLL3 uman ca celule țintă.

Rândurile 1-10: Construcție de anticorp conform invenției, care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiune cum s-a descris în SECV ID NR.260. (Rândurile 1-7: Construcție de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3. Rândurile 8-10: Construcție de anticorp care leagă epitopul DLL3 cuprins în regiunea EGF-4). Rândurile 11-14: Construcție de anticorp care leagă la epitopul DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-5/[EGF-6].

| Rând | Construcție de anticorp bispecific DLL3xCD3 | EC50 [pM] |
|------|---------------------------------------------|-----------|
| 1    | DLL3-4                                      | 53        |
| 2    | DLL3-5                                      | 36        |
| 3    | DLL3-6                                      | 44        |
| 4    | DLL3-7                                      | 40        |
| 5    | DLL3-8                                      | 43        |
| 6    | DLL3-9                                      | 43        |
| 7    | DLL3-10                                     | 40        |
| 8    | DLL3-13                                     | 116       |
| 9    | DLL3-14                                     | 66        |
| 10   | DLL3-15                                     | 57        |
| 11   | DLL3-18                                     | 169       |
| 12   | DLL3-19                                     | 107       |
| 13   | DLL3-20                                     | 171       |
| 14   | DLL3-21                                     | 85        |

De așteptat, valorile EC50 au fost în general mai mari în testele de citotoxicitate cu PBMC nestimulat ca celule efectoare, comparativ cu testele de citotoxicitate folosind celule T CD8+ umane stimulate (vezi Exemplul 8.2).

#### 5 **Exemplul 8.6**

**Potența de redirecționare a PBMC uman nestimulat împotriva liniei celulare SHP-77 a carcinomului pulmonar DLL3-pozitiv**

10 Activitatea citotoxică a construcțiilor de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 a fost, de asemenea, analizată într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS utilizând linia celulară SHP-77 de carcinom pulmonar DLL3 uman pozitiv ca sursă de celule țintă și PBMC uman nestimulat ca celule efectoare. Testul a fost efectuat așa cum este descris în Exemplul 8.4 de mai sus. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 8.

**Tabel 8:** Valori EC50 [pM] ale constructelor de anticorp bispecific măsurate în 48 ore în test de citotoxicitate bazată pe FACS cu PMBC uman nestimulat ca celule efectoare și linie de celule SHP-77 ca sursă de celule țintă.

Rândurile 1-10: Constructe de anticorp conform invenției, care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiune cum s-a descris în SECV ID NR.260. (Rândurile 1-7: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3. Rândurile 8-10: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-4). Rândurile 11-14: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-5/[EGF-6].

| Rând | Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | EC50 [pM] |
|------|-------------------------------------------|-----------|
| 1    | DLL3-4                                    | 44        |
| 2    | DLL3-5                                    | 65        |
| 3    | DLL3-6                                    | 31        |
| 4    | DLL3-7                                    | 30        |
| 5    | DLL3-8                                    | 24        |
| 6    | DLL3-9                                    | 33        |
| 7    | DLL3-10                                   | 32        |
| 8    | DLL3-13                                   | 49        |
| 9    | DLL3-14                                   | 65        |
| 10   | DLL3-15                                   | 66        |
| 11   | DLL3-18                                   | 76        |
| 12   | DLL3-19                                   | 180       |
| 13   | DLL3-20                                   | 1540      |
| 14   | DLL3-21                                   | 770       |

#### **Exemplul 8.7**

#### **Potența de redirecționare a celulelor T de macac împotriva celulelor CHO care exprimă DLL3 de macac**

5 În final, activitatea citotoxică a constructelor de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 a fost analizată într-un test de citotoxicitate bazat pe FACS folosind celule CHO transfectate cu macac (cyno) DLL3 ca celule țintă și linia 4119LnPx de celule T de macac (Knappe și colab. Blood 95: 3256- 61 (2000)) ca sursă de celule efectoare. Marcarea celulelor țintă a celulelor CHO transfectate cu DLL3 de macac și analiza bazată pe citometrie în flux a activității citotoxice a fost  
10 efectuată așa cum s-a descris mai sus.

Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 9. Celulele T de macac din linia celulară 4119LnPx au fost induse pentru a distruge eficient celulele CHO transfectate cu DLL3 de macac prin construct de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 conform invenției. Constructele anticorpului au prezentat puternice valori EC50 picomolare din 2 cifre în acest test, confirmând că sunt foarte  
15 active în sistemul de macac.

**Tabel 9:** Valori EC50 [pM] ale constructelor de anticorp bispecific măsurate în 48 ore în test de toxicitate bazat pe FACS cu linie de celule T de macac 4119LnPx ca celule efectorie și celule CHO transfectate cu DLL3 de macac ca celule țintă.

Rândurile 1-10: Constructe de anticorp conform invenției, care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiune cum s-a descris în SECV ID NR.260. (Rândurile 1-7: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-3. Rândurile 8-10: Constructe de anticorp care leagă la epitop DLL3 cuprins în regiunea EGF-4.) Rândurile 11-14: Constructe de anticorp care leagă la epitopul DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-5(EGF-6).

| Rând | Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | EC50 [pM] |
|------|-------------------------------------------|-----------|
| 1    | DLL3-4                                    | 36        |
| 2    | DLL3-5                                    | 42        |
| 3    | DLL3-6                                    | 40        |
| 4    | DLL3-7                                    | 101       |
| 5    | DLL3-8                                    | 44        |
| 6    | DLL3-9                                    | 58        |
| 7    | DLL3-10                                   | 42        |
| 8    | DLL3-13                                   | 65        |
| 9    | DLL3-14                                   | 28        |
| 10   | DLL3-15                                   | 32        |
| 11   | DLL3-18                                   | 134       |
| 12   | DLL3-19                                   | 66        |
| 13   | DLL3-20                                   | 231       |

|    |         |    |
|----|---------|----|
| 14 | DLL3-21 | 86 |
|----|---------|----|

#### **Exemplul 9**

**Conversia monomerului în dimer după (i) trei cicluri de îngheț/dezgheț și (ii) 7 zile de incubare la 250 µg/ml**

Constructul de anticorp bispecific monomeric DLL3xCD3 a fost supus unor condiții de stres diferite, urmate de SEC de înaltă performanță pentru a determina procentul de construct de anticorp monomeric inițial, care fusese transformat în construct de anticorp dimeric.

(i) 25 µg de construct de anticorp monomeric au fost ajustate la o concentrație de 250 µg/ml cu tampon de formulare generic și apoi congelate la -80°C timp de 30 min urmate de decongelare timp de 30 min la temperatura camerei. După trei cicluri de îngheț/dezgheț, conținutul de dimer a fost determinat de HP-SEC.

(ii) 25 µg de construct de anticorp monomeric au fost ajustate la o concentrație de 250 µg/ml cu tampon generic de formulare urmat de incubare la 37°C timp de 7 zile. Conținutul de dimeri a fost determinat de HP-SEC.

O coloană SEC de înaltă rezoluție TSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Tokyo-Japonia) a fost conectată la un Äkta Purifier 10 FPLC (GE Lifesciences) echipat cu un autosampler A905. Echilibrarea coloanei și tamponul de funcționare au constat din 100 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 200 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ajustat la pH 6,6. Soluția de anticorp (25 µg proteină) a fost aplicată pe coloana echilibrată și eluarea a fost efectuată la un debit de 0,75 ml/min la o presiune maximă de 7 MPa. Întreaga rulare a fost monitorizată la 280, 254 și 210 nm absorbantă optică. Analiza a fost făcută prin integrarea maximă a semnalului de 210 nm înregistrat în foaia de evaluare a rulării software-ului Äkta Unicorn. Conținutul de dimeri a fost calculat prin împărțirea ariei vârfului dimerului la aria totală a monomerului plus vârful dimerului.

Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 10 de mai jos. Constructele anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției au prezentat procente de dimeri de 0,0% după trei cicluri de îngheț/dezgheț și procente de dimeri de ≤ 2% după 7 zile de incubare la 37°C.

**Tabelul 10:** Procentul de construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 monomeric versus dimeric, determinat prin cromatografie de excludere a mărimii de înaltă performanță (HP-SEC).

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Procentul de dimer după trei cicluri de îngheț/dezghet | Procentul de dimer după 7 zile de incubație la 37°C |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| DLL3-4                                    | 0,7                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-5                                    | 1,5                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-6                                    | 1,3                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-7                                    | 1,2                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-8                                    | 1,5                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-9                                    | 1,8                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-10                                   | 0,6                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-13                                   | 1,6                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-14                                   | 0,4                                                    | 0,0                                                 |
| DLL3-15                                   | 1,2                                                    | 0,0                                                 |

**Exemplul 10****Termostabilitate**

5 Temperatura de agregare a anticorpilor a fost determinată după cum urmează: 40 µl de soluție de construct de anticorp la 250 µg/ml au fost transferați într-o cuvă de unică folosință și plasați într-un dispozitiv Wyatt Dynamic Light Scattering DynaPro Nanostar (Wyatt). Proba a fost încălzită de la 40°C la 70°C la o rată de încălzire de 0,5°C/min, cu achiziție constantă a razei măsurate. Creșterea razei indicând topirea proteinei și agregarea a fost utilizată de pachetul software livrat cu dispozitivul DLS pentru a calcula temperatura de agregare a constructului anticorpului.

10 Toate constructele de anticorpi bispecifici DLL3xCD3 testate conform invenției au prezentat stabilitate termică cu temperaturi de agregare  $\geq 45^\circ\text{C}$ , așa cum se arată în Tabelul 11 de mai jos. Grupul de constructe de anticorpi de legare la un epitop al DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-4 (așa cum este descris în SECV ID NR.: 259) au avut chiar și o stabilitate termică de  $\geq 50^\circ\text{C}$ , mai precis, de 2: 54°C.

15 **Tabelul 11:** Termostabilitatea constructelor de anticorpi bispecifici, determinată de DLS (dispersie dinamică a luminii)

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Termostabilitate (agregare DLS°C) |
|-------------------------------------------|-----------------------------------|
| DLL3-4                                    | 59,3                              |
| DLL3-5                                    | 45,4                              |
| DLL3-6                                    | 58,8                              |
| DLL3-7                                    | 58,2                              |
| DLL3-8                                    | 49,8                              |
| DLL3-9                                    | 49,6                              |
| DLL3-10                                   | 52,9                              |
| DLL3-13                                   | 54,0                              |
| DLL3-14                                   | 57,0                              |
| DLL3-15                                   | 56,3                              |

**Exemplul 11****20 Stabilitate după incubare timp de 24 de ore în plasmă umană**

25 Constructele de anticorpi bispecifici purificate au fost incubate la un raport de 1: 5 într-un bazin de plasmă umană la 37°C timp de 96 ore la o concentrație finală de 2-20 µg/ml. După incubarea plasmatică, constructele anticorpului au fost comparate într-un test de eliberare de crom 51 cu celule T CD8 + umane îmbogățite stimulate și celule CHO transfectate cu DLL3 umane la o concentrație inițială de 0,01-0,1 µg/ml și cu un efector pentru celula țintă (E: T) raport de 10: 1

(test așa cum este descris în Exemplul 8.1). Constructele de anticorpi bispecfici proaspăt dezghețate neincubate au fost incluse ca martori.

- 5 Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 12 de mai jos; rezultatele exemplare pentru cele două constructe de anticorpi DLL-4 și DLL-14 sunt, de asemenea, prezentate în Figura 5. Toate constructele testate de anticorpi au avut o stabilitate plasmatică foarte favorabilă ( $EC_{50}$  plasma/ $EC_{50}$  control) de  $\leq 2,5$ . Grupul de constructe de anticorpi de legare la un epitop al DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-4 (așa cum este descris în SECV ID NR.: 259) au avut chiar și o stabilitate plasmatică de  $\leq 1,5$ , mai precis, de  $\leq 1,1$ .

- 10 **Tabelul 12:** Valorile  $EC_{50}$  ale constructelor anticorpului cu și fără incubare plasmatică și valoarea calculată plasmă/control

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | $EC_{50}$ [pM] w/plasmă | fără plasmă | Raport plasmă-control (control $EC_{50}$ plasmă/control $EC_{50}$ ) |
|-------------------------------------------|-------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| DLL3-4                                    | 3,6                     | 3,8         | 0,9                                                                 |
| DLL3-5                                    | 5,4                     | 4,2         | 1,3                                                                 |
| DLL3-6                                    | 4,8                     | 2,1         | 2,3                                                                 |
| DLL3-7                                    | 2,7                     | 2,2         | 1,2                                                                 |
| DLL3-8                                    | 1,0                     | 1,2         | 0,8                                                                 |
| DLL3-9                                    | 1,2                     | 1,2         | 1,0                                                                 |
| DLL3-10                                   | 2,5                     | 1,4         | 1,8                                                                 |
| DLL3-13                                   | 2,0                     | 1,8         | 1,1                                                                 |
| DLL3-14                                   | 4,8                     | 5,4         | 0,9                                                                 |
| DLL3-15                                   | 7,8                     | 9,8         | 0,8                                                                 |

### **Exemplul 12**

#### **Turbiditate la concentrația de anticorpi de 2500 $\mu$ g/ml**

- 15 1 ml de soluție de construct de anticorp purificat cu o concentrație de 250  $\mu$ g/ml a fost concentrată prin unități de concentrație de centrifugare la 2500  $\mu$ g/ml. După 16 ore de stocare la 5°C, turbiditatea soluției de anticorp a fost determinată prin măsurarea absorbției optice OD340 nm împotriva tamponului de formulare generic.

- 20 Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 13 de mai jos. Toate constructele de anticorpi testate au o turbiditate foarte favorabilă de  $\leq 0,1$ , cu excepția unei construct cu o turbiditate ușor peste 0,1. Grupul de constructe de anticorpi de legare la un epitop al DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-4 (așa cum este descris în SECV ID NR.: 259) au chiar o turbiditate  $\leq 0,08$ .

**Tabelul 13:** Turbiditatea constructelor anticorpului după concentrare la 2,5 mg/ml peste noapte

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Turbiditate la 2500 $\mu$ g/ml [OD340] |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|
| DLL3-4                                    | 0,073                                  |
| DLL3-5                                    | 0,106                                  |
| DLL3-6                                    | 0,080                                  |
| DLL3-7                                    | 0,089                                  |
| DLL3-8                                    | 0,069                                  |
| DLL3-9                                    | 0,085                                  |
| DLL3-10                                   | 0,091                                  |
| DLL3-13                                   | 0,075                                  |
| DLL3-14                                   | 0,073                                  |
| DLL3-15                                   | 0,078                                  |

### **Exemplul 13**

- 25 **Omogenitatea proteinelor prin cromatografie cu schimb de cationi de înaltă rezoluție**

Omogenitatea proteinelor constructelor de anticorpi conform invenției a fost analizată prin cromatografie cu schimb de cationi de înaltă rezoluție CIEEX.

50 µg de monomer construct de anticorp au fost diluați cu 50 ml tampon de legare A (20 mM dihidrogen fosfat de sodiu, 30 mM NaCl, 0,01% octanat de sodiu, pH 5,5) și 40 ml din această soluție au fost aplicați la un 1 ml BioPro coloană SP-F (YMC, Germania) conectată la un dispozitiv Micro FPLC Äkta (GE Healthcare, Germania). După legarea probei, a fost efectuată o etapă de spălare cu tampon de legare suplimentar. Pentru eluarea proteinelor, s-a aplicat un gradient de sare în creștere liniară folosind tampon B (20 mM dihidrogen fosfat de sodiu, 1000 mM NaCl, 0,01% octanat de sodiu, pH 5,5) până la 50% procent tampon B pe 10 volume de coloane. Întreaga rulare a fost monitorizată la 280, 254 și 210 nm absorbantă optică. Analiza a fost făcută prin integrarea maximă a semnalului de 280 nm înregistrat în foaia de evaluare a rulării software-ului Äkta Unicorn.

Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 14 de mai jos. Toate constructele de anticorpi testate au o omogenitate foarte favorabilă de  $\geq 80\%$  (aria de sub curbă (= ASC) a vârfului principal). Grupul de constructe de anticorpi de legarea la un epitop al DLL3 care este cuprins în regiunea EGF-3 (așa cum este descris în SECV ID NR.: 258) au chiar o omogenitate  $\geq 90\%$ .

**Tabelul 14:** Omogenitatea proteinelor în constructele anticorpului (% AUC de varf principal)

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Omogenitatea proteinelor % ASC a varfului principal |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| DLL3-4                                    | 96                                                  |
| DLL3-5                                    | 100                                                 |
| DLL3-6                                    | 95                                                  |
| DLL3-7                                    | 93                                                  |
| DLL3-8                                    | 100                                                 |
| DLL3-9                                    | 93                                                  |
| DLL3-10                                   | 90                                                  |
| DLL3-13                                   | 100                                                 |
| DLL3-14                                   | 100                                                 |
| DLL3-15                                   | 83                                                  |

#### **Exemplul 14**

##### **Hidrofobicitatea suprafeței măsurată prin butil HIC**

Hidrofobicitatea de suprafață a constructelor de anticorpi bispecifici conform invenției a fost testată în cromatografie de interacțiune hidrofobă HIC în modul flux.

50 µg de monomer de construct de anticorpi au fost diluați cu tampon generic de formulare până la un volum final de 500 µl (10 mM acid citric, 75 mM lizină HCl, 4% trehaloză, pH 7,0) și aplicate pe o coloană FF de 1 ml de butil sefaroză (GE Healthcare, Germania) conectat la un sistem FPLC Äkta Purifier (GE Healthcare, Germania). Întreaga rulare a fost monitorizată la 280, 254 și 210 nm absorbantă optică. Analiza a fost făcută prin integrarea maximă a semnalului de 280 nm înregistrat în foaia de evaluare a rulării software-ului Äkta Unicorn. Comportamentul de eluare a fost evaluat prin compararea ariei și vitezei de creștere și declin a semnalului proteic, indicând astfel puterea de interacțiune a fuziunii de albumină BiTE cu matricea.

Constructele anticorpului au avut un comportament bun de eluare, care a fost în mare parte rapid și complet.

#### **Exemplul 15**

##### **Decalajul de potențial între monomer și izoforma dimerică a constructelor de anticorpi bispecifici**

Pentru a determina diferența de activitate citotoxică între monomer și izoforma dimerică a constructelor individuale de anticorp bispecific DLL3xCD3 (denumită decalaj de potență), a fost efectuată o analiză de citotoxicitate cu eliberare de crom 51 de 18 ore, așa cum este descris mai sus (Exemplul 8.1), cu constructul de anticorp bispecific purificat monomer și dimer. Celulele efectoare au fost îmbogățite stimulate cu celule T CD8 + umane. Celulele țintă au fost celule CHO transfectate cu DLL3 hu. Raportul efector-celulă țintă (E:T) a fost de 10:1. Decalajul de potență a fost calculat ca raport între valorile EC50.

Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 15 de mai jos; rezultatele exemplare pentru cele două constructe de anticorpi DLL-4 și DLL-14 sunt, de asemenea, prezentate în Figura 6. Decalajul de potență al constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 testate a fost între 0,2 și 1,0. Prin urmare, nu există un dimer substanțial mai activ în comparație cu monomerul respectiv.

5 **Tabelul 15:** Decalajul de potență între monomer și izoforma dimerică

| Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3 | Monomer EC <sub>50</sub> [pM] | Dimer EC <sub>50</sub> [pM] | Raport monomer/dimer EC <sub>50</sub> |
|-------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| DLL3-4                                    | 3,8                           | 5,7                         | 0,7                                   |
| DLL3-5                                    | 4,2                           | 11                          | 0,4                                   |
| DLL3-6                                    | 2,1                           | 13                          | 0,2                                   |
| DLL3-7                                    | 2,2                           | 4,2                         | 0,5                                   |
| DLL3-8                                    | 1,2                           | 3,4                         | 0,4                                   |
| DLL3-9                                    | 1,2                           | 3,8                         | 0,3                                   |
| DLL3-10                                   | 1,4                           | 1,4                         | 1,0                                   |
| DLL3-13                                   | 1,8                           | 3,0                         | 0,6                                   |
| DLL3-14                                   | 5,4                           | 8,7                         | 0,6                                   |
| DLL3-15                                   | 9,8                           | 25                          | 0,4                                   |

#### **Exemplul 16**

##### **Test de internalizare *in vitro***

S-au măsurat modificările potenței constructului de anticorp bispecific DLL3xCD3 ca funcție de preincubare a constructului pe celulele țintă în absența celulelor T. Dacă constructul anticorpului este interiorizat, acesta ar trebui să fie supus degradării lizozomale. Concentrația eficientă ar trebui să scadă în timp și, astfel, potența aparentă ar trebui să scadă și ea. Efectul este observat cu alte ținte, pentru care acesta este un fenomen cunoscut, dar nu s-a observat nici un impact cu constructul de anticorp bispecific DLL3xCD3. Testul a fost efectuat după cum urmează:

15 Celulele T au fost numărate și diluate la o concentrație de  $1 \times 10^5$  /ml în mediu de testare. Celulele SHP-77 au fost numărate și placcate la 2500 celule per godeu (cpw). Constructul anticorpului a fost diluat în serie 1:2 (cu Bravo), la o concentrație inițială de 100 nM. Constructul anticorpului a fost adăugat la plăcile de testare a culturii pentru 0 oră, 1 oră sau 2 ore de incubare înainte de adăugarea celulelor T. Apoi celulele T au fost placcate la 25000 cpw, și testul a fost incubat timp de

20 48 de ore la 37°C. Supraviețuirea celulei SHP-77 a fost analizată cu sistemul Steady-Glo® (25  $\mu$ l/godeu). Rezultatele sunt prezentate în Figura 7 și nu sugerează nici o internalizare semnificativă a constructului anticorpului DLL3-4 x CD3 (I2C).

#### **Exemplul 17**

##### **Studiu de vărsare**

25 Pentru a analiza dacă activitatea citotoxică a constructelor anticorpului bispecific DLL3xCD3 conform invenției este semnificativ afectată de prezența DLL vărsat, a fost efectuată următoarea analiză: Celulele T au fost numărate și diluate la o concentrație de  $1 \times 10^5$ /ml în mediu de testare. Celulele SHP-77 au fost numărate și diluate la o concentrație de  $1,25 \times 10^5$ /ml în mediu de testare cu concentrații crescânde de DLL3 solubil între 0,3 nM și 12 nM. Celulele SHP-77 au

30 fost placcate la 2500 celule per godeu (cpw), iar celulele T au fost adăugate la 25000 cpw. Constructul anticorpului a fost diluat în serie 1: 2 (cu Bravo) și adăugat la testul de cultură (cu Bravo). Incubația a avut loc timp de 48 de ore la 37°C. Supraviețuirea celulei SHP-77 a fost analizată cu sistemul Steady-Glo® (25  $\mu$ l/godeu).

#### **Exemplul 18**

35 **Studiu de eficacitate a xenogrefelor de șoarece**

Activitatea antitumorală a unui construct de anticorp bispecific HLE DLL3xCD3 (SECV ID NR.: 517) a fost testat într-un model de șoareci femele NOD/SCID care au fost injectați subcutanat în ziua 1 a studiului cu  $5 \times 10^6$  celule DLL3 umane SCLC (SHP-77 luc) sau  $5 \times 10^6$  celule de melanom DLL3 pozitive umane (WM 266-4). Celulele efectoare ( $2 \times 10^7$  celule T CD3 + umane

40 vii expandate și activate *in vitro*) au fost injectate intraperitoneal în ziua 12. Inceputul tratamentului a fost în ziua 16 (WM 266-4) sau în ziua 18 (SHP-77 luc). Constructul anticorpului a fost administrat de patru ori la fiecare cinci zile (q5dx4) prin i.v. injecții în bolus. Grupurile de tratament au fost după cum urmează:

- model SCLC (SHP-77 luc)/7 șoareci per group
- o Grupa tratată de vehicul cu celule T
- o un construct de anticorp bispecific DLL3xCD3: 10 mg/kg per administrare
- Model de melanom (WM266-4)/9 șoareci per grup
- 5 o Grupa tratată cu vehicul cu celule T
- o Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3: 10 mg / kg per administrare
- o Construct de anticorp bispecific DLL3xCD3: 2 mg/kg per administrare

10 Tumorile au fost măsurate prin etrier în timpul studiului și progresul evaluat prin compararea intergrupului volumelor tumorale (TV). Inhibarea creșterii tumorii T/C [%] în ziua x este determinată prin calcularea volumului tumorii ca  $T/C (\%) = 100 \times (TV \text{ median al grupului analizat}) / (TV \text{ median al grupului de control})$  și valorile calculate sunt descrise în următorul tabel 16:

**Tabelul 16:** Valorile T/C ale studiilor xenogrefelor de șoarece cu celule SHP-77 luc și celule WM266-4

| Ziua de studiu | T/C (%) model SHP-77 10 mg/kg | T/C (%) model WM266-4 10 mg/kg | T/C (%) model WM266-4 2 mg/kg |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 15             | 103                           | 101                            | 101                           |
| 17             | 92                            | 76                             | 77                            |
| 20             | 64                            | 42                             | 47                            |
| 23             | 50                            | 36                             | 38                            |
| 26             | 52                            | 31                             | 35                            |
| 29             | 34                            | 46                             | 40                            |
| 31             | 33                            | 56                             | 55                            |
| 33             | 30                            | 64                             | 75                            |
| 36             | 24                            | fără                           | fără                          |
| 38             | 19                            | fără                           | fără                          |

15 Rezultatele sunt prezentate în plus în Figura 8A și 8B. Inhibarea semnificativă a creșterii tumorii a fost prezentată în ambele modele tumorale și la ambele niveluri de doză testate de 2 și 10 mg/kg.

#### **Exemplul 19**

##### **20 Studiu de toxicologie exploratorie pe cyno**

S-a efectuat un studiu de toxicologie exploratorie cu un construct de anticorp bispecific extins DLL3xCD3 fără timp de înjumătățire (SECV ID NR.: 554). Trei maimuțe femele cynomolgus au fost dozate prin perfuzie i.v. continuu timp de 16 zile (5, 15 și 45 μg/kg/zi timp de 3 zile fiecare, urmată de 100 μg/kg/zi timp de 7 zile). Nu au fost observații clinice legate de articolele de testare, modificări ale temperaturii corporale, consumului de alimente sau greutatea corporale.

30 În concordanță cu așteptările pentru farmacologia unui construct de anticorp bispecific DLL3xCD3, populațiile de limfocite T circulante (limfocite T totale, limfocite T-helper și citotoxice T, celule NK, limfocite B și limfocite T activate CD25 +) prima zi de dozare și a rămas mai mică pe toată durata studiului la toate animalele. Markerii de activare (CD69 și CD25 pe celulele T activate) au fost crescuți în ziua 1, dar nu la momentele ulterioare ale studiului.

Pentru a rezuma, constructul de anticorp bispecific DLL3xCD3 a fost foarte bine tolerat chiar și la cea mai mare doză testată (100 μg/kg/zi, > 300 x EC<sub>50</sub>).

#### **Exemplul 20**

##### **35 Studii PK cyno**

S-a efectuat un studiu PK cyno cu maimuțe masculi naivi cynomolgus. Trei constructe de anticorp bispecific diferite DLL3xCD3 (I2C) fuzionate cu albumină (DLL3-4, DLL3-6 și DLL3-14) au fost administrate ca bolus unic i.v. la o concentrație de 12 μg/kg. Pentru fiecare dintre molecule a fost utilizat un grup de două animale.

40 Un studiu separat PK cyno a fost realizat în aceleași condiții, dar cu DLL3-4 în diferite versiuni de fuziune Fc.

Probele de sange au fost colectate pre-doză și la 0,05, 0,5, 1, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 240 și 336 ore după doză. Serul a fost preparat pentru determinarea concentrațiilor serice ale

moleculelor într-un test imunologic. Testul a fost realizat prin captarea constructelor anticorpului prin fragmentul lor țintă, în timp ce un anticorp îndreptat împotriva părții de anticorp care leagă CD3 a fost utilizat pentru detectare. Profilele serice de concentrație-timp au fost utilizate pentru a determina parametrii PK. Parametrii farmacocinetici au fost determinați utilizând metode standard de analiză necompartimentală (NCA). Au fost evaluați următorii parametri PK:  $AUC_{inf}$  (zona sub curba concentrației serice-timp),  $V_{ss}$  (volumul de distribuție la starea de echilibru), CL (clearance sistemic) și terminalul  $t_{1/2}$  (timpul de înjumătățire terminal). Pentru toate constructele de anticorpi, nivelurile serice au fost cuantificabile pentru toate momentele de timp la toate animalele după administrarea lor. Nu s-au făcut observații clinice la nici unul dintre animalele tratate.

10 Farmacocinetica constructelor de anticorpi testate este prezentată în Figura 9, iar parametrii PK sunt rezumați ca medie de  $n = 2$  în tabelul 17 de mai jos.

Constructele fuzionate cu albumină au prezentat un profil PK favorabil, în concordanță cu un program de dozare o dată sau de două ori pe săptămână la un pacient uman. S-a observat un profil PK și mai favorabil care susține o dată pe săptămână o doză sau chiar o dată la două săptămâni, cu un construct de fuziune Fc (scFc).

15 **Tabelul 17:** Parametrii farmacocinetici ai variantelor HLE ale constructelor de anticorpi bispecfici DLL3xCD3 la maimuțele cynomolgus

| Construct de anticorp  | $AUC_{inf}$ [ng * h / ml] | $V_{ss}$ [ml/kg] | CL [ml/h/kg] | $t_{1/2}$ [h] |
|------------------------|---------------------------|------------------|--------------|---------------|
| DLL3-4 x I2C HALB      | 20,669                    | 70               | 0,58         | 98            |
| DLL3-6 x I2C HALB      | 20,228                    | 67               | 0,59         | 103           |
| DLL3-14 x I2C HALB     | 21,597                    | 107              | 0,55         | 154           |
| DLL3-4 x I2C scFc      | 29,746                    | 118              | 0,40         | 213           |
| DLL3-4 (cc) x I2C scFc | 24,769                    | 144              | 0,48         | 234           |
| DLL3-4 x I2C hetero Fc | 14,639                    | 166              | 0,82         | 173           |

Tabelul 18: Lista de secvențe

| SECV ID NR | epitop DLL3 | Denumire    | Format/Sursă         | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------|-------------|-------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1          |             | DLL3-1      | VH CDR1              | DYGIH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 2          |             | DLL3-1      | VH CDR2              | VISYHGSNKYYARSVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 3          |             | DLL3-1      | VH CDR3              | EIPFGMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 4          |             | DLL3-1      | VL CDR1              | RSSQSLLHSDGYNLYD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 5          |             | DLL3-1      | VL CDR2              | LGSNRAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 6          |             | DLL3-1      | VL CDR3              | MQALQTPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 7          |             | DLL3-1      | VH                   | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYYARS<br>VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 8          |             | DLL3-1      | VL                   | DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSDGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV<br>PDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTQVDIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 9          | N-term.     | DLL3-1      | scFv                 | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYYARS<br>VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG<br>SGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSDGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG<br>NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTQVDIK                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 10         |             | DLL3-1 xI2C | moleculă bispecifică | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYYARS<br>VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG<br>SGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSDGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG<br>NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTQVDIKSGGGGSEV<br>QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVTVSSGGG<br>GSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG<br>GTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------|----------------|-------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11               |                | DLL3-2      | VH CDR1                 | GYVMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 12               |                | DLL3-2      | VH CDR2                 | WINPNSGDTNYAQKFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 13               |                | DLL3-2      | VH CDR3                 | DANIAALDAFEI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 14               |                | DLL3-2      | VL CDR1                 | RASQSISSYLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 15               |                | DLL3-2      | VL CDR2                 | AASSLQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 16               |                | DLL3-2      | VL CDR3                 | QQSYSTPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 17               |                | DLL3-2      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 18               |                | DLL3-2      | VL                      | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIY<br>GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 19               | N-term.        | DLL3-2      | scFv                    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWG<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK<br>LQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT                                                                                                                                                                                                                     |
| 20               |                | DLL3-2 x12C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWG<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK<br>LQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT<br>LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR<br>KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYISYWAYW<br>SGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV<br>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire           | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|--------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 21               |                | <b>DLL3-3</b>      | VH CDR1      | SYGMH                                                                                                                                                                                                           |
| 22               |                | <b>DLL3-3</b>      | VH CDR2      | VISYHGRDTYYARSVKG                                                                                                                                                                                               |
| 23               |                | <b>DLL3-3</b>      | VH CDR3      | DGATVTSYYYSGMDV                                                                                                                                                                                                 |
| 24               |                | <b>DLL3-3</b>      | VL CDR1      | RASQGISNYLA                                                                                                                                                                                                     |
| 25               |                | <b>DLL3-3</b>      | VL CDR2      | LASSLQS                                                                                                                                                                                                         |
| 26               |                | <b>DLL3-3</b>      | VL CDR3      | QQYNFYPT                                                                                                                                                                                                        |
| 27               |                | <b>DLL3-3</b>      | VH           | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYYSGMD                                                                                                         |
| 28               |                | <b>DLL3-3</b>      | VL           | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIY<br>GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNFYPTFGPGTKVDIK                                                                                                                |
| 29               | <b>EGF-1</b>   | <b>DLL3-3</b>      | scFv         | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYYSGMD<br>GSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWF<br>ASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNFYPTFG |
| 30               |                | <b>DLL3-3 x12C</b> | bispecifică  | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYYSGMD                                                                                                         |
|                  |                |                    | moleculă     |                                                                                                                                                                                                                 |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire           | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                    |                         | GGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQ<br>ASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNFYPTFTFGI<br>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYW<br>GGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPI<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRW |
| 31              |                | <b>DLL3-4</b>      | VH CDR1                 | SYWWS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 32              |                | <b>DLL3-4</b>      | VH CDR2                 | YVYYSGTTNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 33              |                | <b>DLL3-4</b>      | VH CDR3                 | IAVTGFYFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 34              |                | <b>DLL3-4</b>      | VL CDR1                 | RASQRVNNNYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 35              |                | <b>DLL3-4</b>      | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 36              |                | <b>DLL3-4</b>      | VL CDR3                 | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 37              |                | <b>DLL3-4</b>      | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIIVTGFYFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                        |
| 38              |                | <b>DLL3-4</b>      | VL                      | EIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                            |
| 39              | <b>EGF-3</b>   | <b>DLL3-4</b>      | scFv                    | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIIVTGFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLE                                                                                                            |
| 40              |                | <b>DLL3-4 xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                               |
|-----------------|----------------|----------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |          |              | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLS CRASQ RVNNNYLAWYQQRPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKL  |
|                 |                |          |              | ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG       |
| 41              |                | DLL3-5   | VH CDR1      | SYWWS                                                                                                                                                                                                                |
| 42              |                | DLL3-5   | VH CDR2      | YIYSGRTNYYPSLKS                                                                                                                                                                                                      |
| 43              |                | DLL3-5   | VH CDR3      | IAVAGFFFDY                                                                                                                                                                                                           |
| 44              |                | DLL3-5   | VL CDR1      | RASQSVNKNYLA                                                                                                                                                                                                         |
| 45              |                | DLL3-5   | VL CDR2      | GASSRAT                                                                                                                                                                                                              |
| 46              |                | DLL3-5   | VL CDR3      | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                            |
| 47              |                | DLL3-5   | VH           | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARI AVAGFFFDYWGQGT                                                                                                            |
| 48              |                | DLL3-5   | VL           | EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQ SVNKNYLA WYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEIK                                                                                                                  |
| 49              | EGF-3          | DLL3-5   | scFv         | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARI AVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQ SVNKNYLA WYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKL |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------|----------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 50               |                | DLL3-5 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQ<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ |
|                  |                |             |                         | GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG                                                                                                                                                                                                                    |
| 51               |                | DLL3-6      | VH CDR1                 | SFYWS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 52               |                | DLL3-6      | VH CDR2                 | YIYYSGTTNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 53               |                | DLL3-6      | VH CDR3                 | IAGVAGFFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 54               |                | DLL3-6      | VL CDR1                 | RASQSVNKNYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 55               |                | DLL3-6      | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 56               |                | DLL3-6      | VL CDR3                 | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 57               |                | DLL3-6      | VH                      | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                  |
| 58               |                | DLL3-6      | VL                      | EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKEIK                                                                                                                                                                                                                           |
| 59               | EGF-3          | DLL3-6      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|----------------|-------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |             |                         | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTV                                                                                                                                                              |
| 60              |                | DLL3-6 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGSGGGGSOTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ |
|                 |                |             |                         | FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 61              |                | DLL3-7      | VH CDR1                 | SFYWS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 62              |                | DLL3-7      | VH CDR2                 | YIYYSGTTNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 63              |                | DLL3-7      | VH CDR3                 | IAGVAGFFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 64              |                | DLL3-7      | VL CDR1                 | RASQSVNKNYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 65              |                | DLL3-7      | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 66              |                | DLL3-7      | VL CDR3                 | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 67              |                | DLL3-7      | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 68              |                | DLL3-7      | VL                      | EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTVKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------|----------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 69               | EGF-3          | DLL3-7      | scFv                    | QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQ<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKTV                                                                                                                                                                                                                      |
| 70               |                | DLL3-7 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQ<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKTV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCIVLWYSNRWVFGGG |
| 71               |                | DLL3-8      | VH CDR1                 | SFYWS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 72               |                | DLL3-8      | VH CDR2                 | YIYSGTTNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 73               |                | DLL3-8      | VH CDR3                 | IAGVAGFFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 74               |                | DLL3-8      | VL CDR1                 | RASQSVNKNYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 75               |                | DLL3-8      | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 76               |                | DLL3-8      | VL CDR3                 | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 77               |                | DLL3-8      | VH                      | QVQLQEWGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 78               |                | DLL3-8      | VL                      | EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKTKVDIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 79               | EGF-3          | DLL3-8      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------|----------------|-------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |             |                         | QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTV                                                                                                                                                                                                                      |
| 80              |                | DLL3-8 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG |
| 81              |                | DLL3-9      | VH CDR1                 | SFYWS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 82              |                | DLL3-9      | VH CDR2                 | YIYSGTTNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 83              |                | DLL3-9      | VH CDR3                 | IAGVAGFFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 84              |                | DLL3-9      | VL CDR1                 | RASQSVNKNYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 85              |                | DLL3-9      | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 86              |                | DLL3-9      | VL CDR3                 | QQYDRSPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 87              |                | DLL3-9      | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 88              |                | DLL3-9      | VL                      | EIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTVRLK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 89              | EGF-3          | DLL3-9      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire           | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------|----------------|--------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                    |                         | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLE                                                                                                                                                                                                                       |
| 90              |                | <b>DLL3-9 xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLE<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCIVLWYSNRWVFGGG |
| 91              |                | <b>DLL3-10</b>     | VH CDR1                 | SYYS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 92              |                | <b>DLL3-10</b>     | VH CDR2                 | YIFYNGITNYPNPSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 93              |                | <b>DLL3-10</b>     | VH CDR3                 | IHSGSFSFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 94              |                | <b>DLL3-10</b>     | VL CDR1                 | RASQSVSRGYLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 95              |                | <b>DLL3-10</b>     | VL CDR2                 | GASSRAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 96              |                | <b>DLL3-10</b>     | VL CDR3                 | QQYDTSPIT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 97              |                | <b>DLL3-10</b>     | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKYYCARIHSGSFSFDYWDQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 98              |                | <b>DLL3-10</b>     | VL                      | EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAQYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPITFGQGQTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 99              | <b>EGF-3</b>   | <b>DLL3-10</b>     | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire            | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------|----------------|---------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                     |                         | QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKEYCARIHSGSFSFDYWDQGT<br>GSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPG<br>TDIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPITFGQGTKV                                                                                                                                                                                                                        |
| 100             |                | <b>DLL3-10 xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKEYCARIHSGSFSFDYWDQGT<br>GSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPG<br>TDIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPITFGQGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGO<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCIVLWYSNRWVFGGG |
| 101             |                | <b>DLL3-11</b>      | VH CDR1                 | NAGMS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 102             |                | <b>DLL3-11</b>      | VH CDR2                 | RIKNKIDGGTTDFAAPVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 103             |                | <b>DLL3-11</b>      | VH CDR3                 | RGWYGDYFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 104             |                | <b>DLL3-11</b>      | VL CDR1                 | RSSQSLLHSNGYNYLD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 105             |                | <b>DLL3-11</b>      | VL CDR2                 | LGSNRAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 106             |                | <b>DLL3-11</b>      | VL CDR3                 | MQALQTPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 107             |                | <b>DLL3-11</b>      | VH                      | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVG<br>APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 108             |                | <b>DLL3-11</b>      | VL                      | DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFGPGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 109             | <b>EGF-3</b>   | <b>DLL3-11</b>      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVG<br>APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWG<br>GGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLD<br>YLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFT                                                                                                                                                                                                                    |
| 110             |                | DLL3-11 xI2C | moleculă<br>bispecifică | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVG<br>APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWG<br>GGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLD<br>YLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFT<br>GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW<br>YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS<br>SGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGN<br>GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSN |
| 111             |                | DLL3-12      | VH CDR1                 | SYDIH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 112             |                | DLL3-12      | VH CDR2                 | VISSHGSKNYARSVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 113             |                | DLL3-12      | VH CDR3                 | DGYSGNDPFYYYYHGM DV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 114             |                | DLL3-12      | VL CDR1                 | RASQSISSYLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 115             |                | DLL3-12      | VL CDR2                 | AASSLQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 116             |                | DLL3-12      | VL CDR3                 | QQSFTTPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 117             |                | DLL3-12      | VH                      | QVQLVESGGGVVQPGGRSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYSGNDPFYYYYH<br>S                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 118             |                | DLL3-12      | VL                      | DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY<br>GSGSGTDFSLTISSLPEDFATYYCQQSFTTPLTFGGGKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 119             | EGF-           | DLL3-12      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------|----------------|--------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | 3/[4]          |              |                         | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYSGNDPFYYYYH<br>SGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYL<br>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQSFTTPL                                                                                                                                                                                                                        |
| 120              |                | DLL3-12 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYSGNDPFYYYYH<br>SGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYL<br>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQSFTTPL<br>GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW<br>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS<br>SSGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGI<br>RGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS |
| 121              |                | DLL3-13      | VH CDR1                 | SYMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 122              |                | DLL3-13      | VH CDR2                 | IINPSDGSTNYAQNFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 123              |                | DLL3-13      | VH CDR3                 | GGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 124              |                | DLL3-13      | VL CDR1                 | RSSQSLVYRDGNTYLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 125              |                | DLL3-13      | VL CDR2                 | KVSNWQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 126              |                | DLL3-13      | VL CDR3                 | MQGTHWPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 127              |                | DLL3-13      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTTRDTSTNTVYMEISSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 128              |                | DLL3-13      | VL                      | DVVM TQSPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPQGSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 129              | EGF-4          | DLL3-13      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDYAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSINWQSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWP                                                                                                                                                                                                                           |
| 130             |                | DLL3-13 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDYAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSINWQSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDYAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTGSSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 131             |                | DLL3-14      | VH CDR1                 | NYMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 132             |                | DLL3-14      | VH CDR2                 | IINPSDGSTSYAQKFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 133             |                | DLL3-14      | VH CDR3                 | GGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 134             |                | DLL3-14      | VL CDR1                 | RSSQSLVYRDGNTYLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 135             |                | DLL3-14      | VL CDR2                 | KVSINWQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 136             |                | DLL3-14      | VL CDR3                 | MQGTHWPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 137             |                | DLL3-14      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDYAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 138             |                | DLL3-14      | VL                      | DVVMQTQTPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWVQQRPGQSP<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 139             | EGF-4          | DLL3-14      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP                                                                                                                                                                                                                           |
| 140             |                | DLL3-14 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 141             |                | DLL3-15      | VH CDR1                 | GYIYH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 142             |                | DLL3-15      | VH CDR2                 | IINPSDGSTSYGQNFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 143             |                | DLL3-15      | VH CDR3                 | GGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 144             |                | DLL3-15      | VL CDR1                 | RSSQSLAYRDGNTYLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 145             |                | DLL3-15      | VL CDR2                 | KVSNWQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 146             |                | DLL3-15      | VL CDR3                 | MQGTHWPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 147             |                | DLL3-15      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIYHWRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMESSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 148             |                | DLL3-15      | VL                      | DVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPQGSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 149             | EGF-4          | DLL3-15      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------------------|----------------|--------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWP                                                                                                                                                                                                                             |
| 150              |                | DLL3-15 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 151              |                | DLL3-16      | VH CDR1                 | GHYMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 152              |                | DLL3-16      | VH CDR2                 | IINPSDGSTNYAQKFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 153              |                | DLL3-16      | VH CDR3                 | GTTWHYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 154              |                | DLL3-16      | VL CDR1                 | RSSQSLVYRDGNTYLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 155              |                | DLL3-16      | VL CDR2                 | KVSNWQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 156              |                | DLL3-16      | VL CDR3                 | MQGTHWPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 157              |                | DLL3-16      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHYMHVVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTSTVYMELRSLRSED TAVYYCTRGT TVVHYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 158              |                | DLL3-16      | VL                      | DVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLTW FQQRPQGSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPTFGGGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 159              | EGF-4          | DLL3-16      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTSTVYMELRSLRSED TAVYYCTRGT TVVHYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPI                                                                                                                                                                                                                                 |
| 160             |                | DLL3-16 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTSTVYMELRSLRSED TAVYYCTRGT TVVHYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQP GGS LKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 161             |                | DLL3-17      | VH CDR1                 | NYFMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 162             |                | DLL3-17      | VH CDR2                 | IINPSDGSTSYAQNFQG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 163             |                | DLL3-17      | VH CDR3                 | GGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 164             |                | DLL3-17      | VL CDR1                 | RSSQSLVYRDGNTYLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 165             |                | DLL3-17      | VL CDR2                 | RVSNWQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 166             |                | DLL3-17      | VL CDR3                 | MQGTYWPPT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 167             |                | DLL3-17      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYFMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYME LSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 168             |                | DLL3-17      | VL                      | DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRP GQSP<br>PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYFCMQGTYWPPTFGQGTKVDIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 169             | EGF-4          | DLL3-17      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNFMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYRVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTYP                                                                                                                                                                                                                            |
| 170             |                | DLL3-17 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNFMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYRVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTYP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTGSSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 171             |                | DLL3-18      | VH CDR1                 | NYGMH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 172             |                | DLL3-18      | VH CDR2                 | VISHHGSSKYYARSVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 173             |                | DLL3-18      | VH CDR3                 | DWWELVFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 174             |                | DLL3-18      | VL CDR1                 | KSSQSLLHSDGKTFLY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 175             |                | DLL3-        | VL CDR2                 | EVSNRFS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 176             |                | DLL3-18      | VL CDR3                 | LQGIHLPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 177             |                | DLL3-18      | VH                      | QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 178             |                | DLL3-18      | VL                      | DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTFLYWYLQKPGQPP<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPFTFGPGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 179             | EGF-           | DLL3-18      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------|----------------|--------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | 5/[6]          |              |                         | QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGT<br>GSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTFLYWYL<br>SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPFTFGP                                                                                                                                                                                                                  |
| 180              |                | DLL3-18 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGT<br>GSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTFLYWYL<br>SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPFTFGP<br>VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR<br>SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA<br>GSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPN<br>GGTKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV |
| 181              |                | DLL3-19      | VH CDR1                 | NSRMGVS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 182              |                | DLL3-19      | VH CDR2                 | HIFSNDGKSYSTSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 183              |                | DLL3-19      | VH CDR3                 | YNYDSSGYYSFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 184              |                | DLL3-19      | VL CDR1                 | RASQSISSYLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 185              |                | DLL3-19      | VL CDR2                 | AASSLQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 186              |                | DLL3-19      | VL CDR3                 | QQGYSSPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 187              |                | DLL3-19      | VH                      | QVTLKESGPMLVKPTETLTCTVSGFSLSNSRMGVSWIRQPPGRALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYNYDSSGYYSFF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 188              |                | DLL3-19      | VL                      | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY<br>GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYSSPFTFGGGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 189              | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-19      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire            | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|---------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                     |                         | QVTLKESGPMLVKPTETLTTLTCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYNYDSSGYYYSFF<br>GGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW<br>AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQGYSSPFTF                                                                                                                                                                                                                 |
| 190              |                | <b>DLL3-19 xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVTLKESGPMLVKPTETLTTLTCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYNYDSSGYYYSFF<br>GGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW<br>AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQGYSSPFTF<br>SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWV<br>ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>GGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR |
| 191              |                | <b>DLL3-20</b>      | VH CDR1                 | NARMGVS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 192              |                | <b>DLL3-20</b>      | VH CDR2                 | HIFSTDEKSYSTSLKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 193              |                | <b>DLL3-20</b>      | VH CDR3                 | YYYDSSGYYYSFFDY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 194              |                | <b>DLL3-20</b>      | VL CDR1                 | RASQSIRSYLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 195              |                | <b>DLL3-20</b>      | VL CDR2                 | GASNLQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 196              |                | <b>DLL3-20</b>      | VL CDR3                 | QQSYSSPFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 197              |                | <b>DLL3-20</b>      | VH                      | QVTLKESGPVLVKPTETLTTLTCTVSGFSLSNARMGVSWLRQPPGKALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYYYDSSGYYYSFF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 198              |                | <b>DLL3-20</b>      | VL                      | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPGKAPKLLIY<br>GSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSSPFTFGGGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 199              | <b>EGF-</b>    | <b>DLL3-20</b>      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------|----------------|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | 5/[6]          |              |                         | QVTLKESGPVLVKPTETLTTLTCTVSGFSLSNARMGVSWLRQPPGKALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYYYDSSGYYSFFI<br>GGSGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNW<br>GASNLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSSPFTF                                                                                                                                                                                                                   |
| 200              |                | DLL3-20 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVTLKESGPVLVKPTETLTTLTCTVSGFSLSNARMGVSWLRQPPGKALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYYYDSSGYYSFFI<br>GGSGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNW<br>GASNLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSSPFTF<br>SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV<br>ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>GGSGGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR |
| 201              |                | DLL3-21      | VH CDR1                 | SYIYH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 202              |                | DLL3-21      | VH CDR2                 | IINPSGGSKSYAQKFRG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 203              |                | DLL3-21      | VH CDR3                 | SMSTVTSDAFDI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 204              |                | DLL3-21      | VL CDR1                 | RASQISNYLN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 205              |                | DLL3-21      | VL CDR2                 | AASSLQS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 206              |                | DLL3-21      | VL CDR3                 | QQSYSAPLT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 207              |                | DLL3-21      | VH                      | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FRGRVTMTTRDTSTSTVYMEISLTSEDATAVYYCARSMSTVTSDAFDI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 208              |                | DLL3-21      | VL                      | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNYLNWYQQKPKAPKLLIY<br>GSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSAPLTFGGGTKVDIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 209              | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-21      | scFv                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |              |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYIIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLTSED TAVYYCARSMSVTSTDAFDIWG<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SNYLNWYQQK<br>LQSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSAPLTFGGGT                                                                                                                                                                                                                       |
| 210             |                | DLL3-21 xI2C | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYIIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLTSED TAVYYCARSMSVTSTDAFDIWG<br>GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SNYLNWYQQK<br>LQSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSAPLTFGGGT<br>LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR<br>KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW<br>SGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQ<br>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG |
| 211             | EGF-3          | DLL3-4 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSTLSPGERVTLS CRASQRVNNNYLAWYQQRPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTLK<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG     |
| 212             | EGF-3          | DLL3-5 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARI AVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSTLSPGERATLS CRASQSVNKNYLA WYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTLK<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire     | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------|----------------|--------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 213              | EGF-3          | DLL3-6 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT |
| 214              | EGF-3          | DLL3-7 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT |
| 215              | EGF-3          | DLL3-8 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQEWGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------|----------------|---------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 216              | EGF-3          | DLL3-9 xF12Q  | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQ<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLI<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQF<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT |
| 217              | EGF-3          | DLL3-10 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPQSQTLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKYYCARIHSGSFSFDYWDQGT<br>GSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQ<br>TDIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPIITFGQGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQF<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT |
| 218              | EGF-4          | DLL3-13 xF12Q | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMESSLRSEDVAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L   |
| 219              | EGF-4          | DLL3-14x12Q   | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                            | Format/Sursă                                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                     |                                                 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                 |                |                                     |                                                 | LIYKVSNNQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L                                                                                                                                                               |
| 220             | EGF-4          | DLL3-15 xF12Q                       | moleculă<br>bispecifică                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 221             | N-term.        | DLL3-1 xI2C -<br>HALB varianta<br>1 | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB<br>varianta 1 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                            | Format/Sursă                                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                     |                                                 | QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGT<br>SGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSDGYNLDWYLQ<br>NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGG<br>QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARII<br>VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY<br>GSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNW<br>GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF<br>SDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTE<br>DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPN<br>AFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADK<br>GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTD<br>ECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA<br>VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAA<br>KPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV<br>PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFS<br>AGTFTTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFA<br>CFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH |
| 222             | N-term.        | DLL3-2 xI2C -<br>HALB varianta<br>1 | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB<br>varianta 1 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------|----------------|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                       |                                   | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGGGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWG<br>GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK<br>LQSGVPSPRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT<br>LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR<br>KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW<br>SGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV<br>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG<br>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQC PFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>GTFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAI<br>FAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 223             | EGF-1          | DLL3-3 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|----------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                       |                                   | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYS GMD<br>GGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNYLAWF<br>ASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYNFYPTFGI<br>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW<br>GGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW<br>GGSDAHKSEVAHREKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL VNEV<br>NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNI<br>CTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQA<br>DEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLV<br>LLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMI<br>KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA<br>EFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLV<br>KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPC |
|                 |                |                       |                                   | FNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD<br>ETCFAEEGKKLVAA SQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 224             | EGF-3          | DLL3-4 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|----------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                       |                                 | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIATVGFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSRASQSVNNNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQCCPFEDHVKLNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC<br>SSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTK<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 225             | EGF-3          | DLL3-5 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQCCPFEDHVKLNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC<br>SSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTK<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADP                                                                                                                                                                                       |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------|----------------|-----------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                       |                                 | VEEPQNLIKQNCSELFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNI<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVI<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 226              | EGF-3          | DLL3-6 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCFEDHVKLVNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAATECCQAADKAAC<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCSELFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNI<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVI<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 227              | EGF-3          | DLL3-7 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------|----------------|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                       |                                   | QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGV<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGTI<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGT<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGO<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQP<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPR<br>DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV |
|                 |                |                       |                                   | DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 228             | EGF-3          | DLL3-8 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire              | Format/Sursă                         | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------|----------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                       |                                      | QVQLQEWGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAYQLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRI<br>DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAADKAAC<br>SSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK<br>DDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCTSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EGGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 229             | EGF-3          | DLL3-9 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>-<br>HALB | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLE<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAYQLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                 |                |                       |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACI<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 230             | EGF-3          | DLL3-10 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKYYCARIHSGSFSFDYWDQGT<br>GSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQ<br>TDIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPIITFGQGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPR<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACI<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 231             | EGF-3          | DLL3-11 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVG<br>APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWG<br>GGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGYNLYLD<br>YLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTI<br>GSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW<br>YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYIS<br>SGGGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGN<br>GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNI                                                                                         |
|                 |                |                        |                                   | GGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNI<br>AENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDI<br>VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ<br>LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSK<br>GDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDI<br>ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEK<br>FDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT<br>CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR<br>KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMI<br>DKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 232             | EGF-<br>3/[4]  | DLL3-12 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYSGNDPFYYYH<br>SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL<br>IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISLQPEDFATYYCQQSFSTPL<br>GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLE<br>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI<br>SSGGGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG<br>RGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>PGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLV<br>SAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHK<br>DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECC<br>ELRDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVS<br>HGDILLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEN<br>VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRILAKTYETTL<br>VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTP<br>KCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNR<br>PKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV<br>DDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 233             | EGF-4          | DLL3-13 x12C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGGGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGSGGGGSDVVMQSPFLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLE<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                 |                |                        |                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LPGGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKN<br>ESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAY<br>ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 234             | EGF-4          | DLL3-14 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LPGGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKN<br>ESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAY<br>ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 235             | EGF-4          | DLL3-15 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        | HALB                              | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGGGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                 |                |                        |                                   | GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LPGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL<br>ESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVEL<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVVEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTI<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNI<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAY<br>ADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH |
| 236             | EGF-4          | DLL3-16 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire            | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------|----------------|---------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                     |                                 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGHYMHWVRQAPGGGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTSTVYMELRSLRSEDYAVYYCTRGTTVVHYSYYDMDV<br>GSGGGSGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSINWQSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT<br>HWP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTGSSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWY<br>LPGGGGSDAHKSEVAHFRKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL<br>ESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKYLEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCAQLQKGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVLEPQNLKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKA<br>ADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH |
| 237             | EGF-4          | DLL3-17x12C<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYFMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELRSSLRSEDYAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                 |                |                     |                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | GSGGGGSGGGGSDVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYRVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTYP<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>LPGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL<br>ESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEV<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVTKCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV<br>ADDKETCF AE EGKKLV AASQAALGLHHHHHH |
| 238             | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-18 x12C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVA<br>VKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGT<br>GSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTFLYWYL<br>SNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGYYCLQGIHLFPFTFGP<br>VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR<br>SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA<br>GSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPN<br>GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV<br>GSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVT<br>CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP<br>TAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAAD<br>EGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVT<br>LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND EMP<br>DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA<br>FKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVE<br>HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFS<br>NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDF<br>TCF AE EGKKLVAAASQAALGLHHHHHH |
| 239             | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-19 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | QVTLKESGPMLVKPTETLTTLCTVSGFSLSNSRMGVSWIRQPPGRALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARYNYDSSGYYYSFF<br>GGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW<br>AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSSPFTF<br>SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV<br>ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>GGGSGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSNGY<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR<br>GGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCFEDHVKLVNE<br>ENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD<br>MCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA<br>RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL<br>DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDE<br>SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCO<br>DEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLV<br>CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRP<br>EFNAETFTTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDI<br>KETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 240             | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-20 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | QVTLKESGPVLVKPTETLTTLCTVSGFSLSNARMGVSWLRQPPGKALEW<br>SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYYYDSSGYYSFF<br>GGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLW<br>GASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPFTF<br>SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV<br>ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY<br>GGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY<br>LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR<br>GGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCFEDHVKL VNE<br>ENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDD<br>MCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQA<br>RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL<br>DLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDE<br>SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKC<br>DEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLV<br>CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRP |
|                 |                |                        |                                   | EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMD<br>KETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 241             | EGF-<br>5/[6]  | DLL3-21 xI2C -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYIIHWVRQAPGGGLEWMG<br/> FRGRVTMTRDTSTSTVYMESSLTSED TAVYYCARSMSTVTSDAFDIWG<br/> GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SNYLNWYQQK<br/> LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSY SAPLTFGGGT<br/> LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR<br/> KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW<br/> SGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSSTGAVTSGNYPNWV<br/> TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG<br/> DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQC PFEDHVKLVNEVTEFA<br/> KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NL<br/> FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAA<br/> KASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br/> CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br/> CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br/> PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br/> EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSAI<br/> ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br/> FAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH</p> |
| 242             | EGF-3          | DLL3-4 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | <p>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br/> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFFYFDYWGQGT<br/> GSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGERVTLSCRASQ RVNNNNYLAWYQQRP<br/> TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKL<br/> ESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br/> RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br/> GGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSSTGAVTSGNYPNWVQ<br/> FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br/> HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQC PFEDHVKLVNEVTEFAK<br/> LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPR<br/> DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAACI<br/> SSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV<br/> DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br/> NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADP</p>                                                                                                                                                                                                        |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------------------|----------------|------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                        |                                 | VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNI<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVI<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 243              | EGF-3          | DLL3-5 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br>GGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCFEDHVKLVNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNI<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVI<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 244              | EGF-3          | DLL3-6 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                   | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGV<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGTI<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGT<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWWAYWGO<br>GGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQP<br>FLAPGTPARFSGSLGGAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPR<br>DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAC<br>SSAKQRLK CASLQKFGERA FKA W A V A R L S Q R F P K A E F A E V S K L V T D L T K V |
|                 |                |                        |                                   | DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEY<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAAASQAALGLHHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 245             | EGF-3          | DLL3-7 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                         | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|----------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                      | QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVI<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAYQLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRI<br>DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAADKAACI<br>SSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK<br>DDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCTSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 246             | EGF-3          | DLL3-8 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>-<br>HALB | QVQLQEWGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVI<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAYQLQQCPFEDHVKL VNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                 |                |                        |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACI<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 247             | EGF-3          | DLL3-9 xF12Q -<br>HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQTI<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQ<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLE<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFQAQYLQCCPFEDHVKLNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR<br>DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACI<br>SSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT<br>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 248             | EGF-3          | DLL3-10 xF12Q<br>-HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                      | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------|----------------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                        |                                   | QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKEYCARIHSGSFSFDYWDQGT<br>GSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGT<br>TDIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPIFGQGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWQQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT                                                                                             |
|                  |                |                        |                                   | HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFQAQYLQQC PFEDHVKLVNEVTEFAK<br>LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPR<br>DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAAC<br>SSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KY<br>DDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP<br>NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADP<br>VEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRN<br>KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALE<br>FTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV<br>EEGKKLVAAASQAALGLHHHHHH |
| 249              | EGF-4          | DLL3-13 xF12Q<br>-HALB | moleculă<br>bispecifică -<br>HALB |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGGGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQT VVTQEPSTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>LPGGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL<br>ESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLV EEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV<br>ADDKETCF AE EGKKLVAA SQAALGLHHHHHH |
| 250             | EGF-4          | DLL3-14 xF12Q<br>-HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                 |                |                        |                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă                    | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                        |                                 | VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LPGGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLY<br>ESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAY<br>ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 251             | EGF-4          | DLL3-15 xF12Q<br>-HALB | moleculă<br>bispecifică<br>HALB | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LPGGGGSDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLY<br>ESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOH<br>VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTEC<br>DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS<br>CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE<br>FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTL<br>KVFDEFKPLVVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST<br>SKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN<br>VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAY<br>ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH |
| 252             | -              | DLL3 umană             | umană                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                                | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------|----------------|-----------------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                         |              | MVSPRMSGLLSQTIVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRC                                                                                                                                                                                                                      |
|                  |                |                                         |              | STSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPI<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPGFGQSNCEKRVDRCSLQPCRNC<br>CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRI<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQR<br>VAGAALLLVHVRRRGHSQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNLRTQEGS<br>DVDPQGIYVISAPSIYAREVATPLFPPLHTGRAGQRQHLLFPYPSSILSV                                                                                                             |
| 253              | -              | <b>DLL3</b><br><b>umană</b> <b>ECD</b>  | umană        | MVSPRMSGLLSQTIVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRC<br>STSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPI<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPGFGQSNCEKRVDRCSLQPCRNC<br>CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRI<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQR |
| 254              | -              | <b>DLL3</b><br><b>Hu</b> <b>N-term.</b> | umană        | MVSPRMSGLLSQTIVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 255              | -              | <b>DLL3</b> <b>DSL dom</b><br><b>Hu</b> | umană        | ARCEPPAVGTACTRLCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 256              | -              | <b>DLL3</b> <b>EGF-1</b><br><b>Hu</b>   | umană        | APLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

| SECV ID NR | epitop DLL3 | Denumire                         | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------|-------------|----------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 257        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-2</b>             | umană        | GPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 258        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-3</b>             | umană        | SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 259        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-4</b>             | umană        | RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 260        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-3+4</b>           | umană        | SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 261        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-5</b>             | umană        | DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 262        | -           | <b>DLL3 Hu EGF-6</b>             | umană        | RADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 263        | -           | <b>DLL3 ECD x EpCA M umană</b>   | artificială  | MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGGAPRSP<br>LKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPE<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRGCGPLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECR<br>STSSCLSPRGPSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPR<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNG<br>CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQR<br>VIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA |
| 264        | -           | <b>V5 x DLL3-DSL hu x EpCA M</b> | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGARCEPPAVGTACTRI<br>LRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECCLEGWTGPLCTVPVS<br>TTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT<br>GADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCR<br>DDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHG<br>APGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGSGAGVIA<br>VLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA                                                                                                                      |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                          | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------|----------------|-----------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 265              | -              | V5 x DLL3-<br>EGF1 hu x<br>EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGAPLVCRAGCSPEHG<br>TGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSET<br>LRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPD SAYICHCPPGFQGSNCEKRV<br>DLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCA<br>CAARPCA HGGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPP<br>GGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRE |
| 266              | -              | V5 x DLL3-<br>EGF2 hu x<br>EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGGPGPCDGNPCANGG<br>RGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPD SAYICHCPPGFQGSNC<br>GGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAH<br>ERADPCAARPCA HGGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGASAL<br>YLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEM                                                      |
| 267              | -              | V5 x DLL3-<br>EGF3 hu x<br>EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGSGVTCADGPCFNGG<br>HCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRC<br>GGTCVEGGGAHRCSCALGFGGDRDCRERADPCAARPCA HGGRCYAHFSGL<br>FPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVA<br>AKYEKAEIKEMGEMHRELNA                                                                                 |
| 268              | -              | V5 x DLL3-<br>EGF4 hu x<br>EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGRVDRCSLQPCRNGG<br>AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGDRDCRE<br>CYAIFSGLVACAPGYMGARCEFPVIHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL<br>VVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA                                                                                                                  |
| 269              | -              | V5 x DLL3-<br>EGF5 hu x<br>EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGDLDDCAGRACANGG<br>LGFGGRDCRERADPCAARPCA HGGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFP<br>GLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAK<br>ELNA                                                                                                                                                         |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                   | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------|----------------|----------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 270             | -              | V5 x DLL3-EGF6 hu x EpCA M | artificială  | MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGLDSTSGRADPCAARPCAHHGGLPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 271             | -              | Macaq ue DLL3              | cyno         | MVSPRMSRLLSQTIVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECR<br>STSSCLGLRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCP<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPGPFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNC<br>CRAGFAGPRCEHNLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGDRCR<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGSRCFEPVHPDGVSALPAAPPGLRPGDPQR<br>VAGAALLLVHVRRRGHAQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNQRTQEGP<br>DVDSRGIYVISAPSIYAREA |
| 272             | -              | Macaq ue DLL3 ECD          | cyno         | MVSPRMSRLLSQTIVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECR<br>STSSCLGLRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCP<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPGPFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNC<br>CRAGFAGPRCEHNLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGDRCR<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGSRCFEPVHPDGVSALPAAPPGLRPGDPQR                                                                              |
| 273             | -              | Ma DLL3 N-term.            | cyno         | MVSPRMSRLLSQTIVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPFI<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 274             | -              | Ma DLL3 DSL                | cyno         | ARCELPVGTACTRLCRPRSAPSRGPGPLRPCAPLEDECE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------|----------------|-----------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                | <b>dom.</b>                 |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 275              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-1</b>        | cyno         | APPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 276              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-2</b>        | cyno         | GPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 277              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-3</b>        | cyno         | SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 278              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-4</b>        | cyno         | RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 279              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-3+4</b>      | cyno         | SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 280              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-5</b>        | cyno         | NLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 281              | -              | <b>Ma DLL3 EGF-6</b>        | cyno         | RADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVACAPGYMGSRCE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 282              | -              | <b>Ma DLL3 ECD x EpCA M</b> | artificială  | MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP<br>LKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPF<br>WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYR<br>LCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECR<br>STSSCLGLRGPSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCP<br>CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNG<br>CRAGFAGPRCEHNLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR<br>GRCYAHFSGLVACAPGYMGSRCEFPVHPDGVSAALPAAPPGLRPGDPQR<br>VIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAYEKAEIKEMGEMHRELNA |
| 283              | -              | <b>DLL1 umană</b>           | umană        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire          | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------|----------------|-------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                   |              | MGSRCALALAVLSALLCQVWSSGVFELKLQEFVNKKGLLGNRNCCRGGA<br>LKHYQASVSPPEPPCTYGSVTPVLGVDSFSLPDGGGADSAFSNPIRFPF<br>LHTDSPDDLATENPERLISR LATQRHLTVGEEWSQDLHSSGR TDLKYSY<br>VFCRPRDDAFGHFTCGERGEKVCNPGWKGPYCTEPICLPGCDEQHGFCDE<br>YCDECIRYPGCLHGTCQQPWQCNCQEGWGGLFCNQDLNYCTHHKPCKNGA<br>CRPGYTGATCCLGIDECDPSPCKNGGSCTDLENSYSCTCPPGFGYKICE                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|                  |                |                   |              | GRCS DSPDGGYSCRCPVGYSGFNCEKKIDYCSSSPCSNGAKCVDLGDAY<br>DNVDDCASSPCANGGTCTRDGVNDFSCTCPPGYTGRNCSAPVSRCEHAPCI<br>CECARGYGGPNCQFLLPELPPGPAVVDL TEKLEGQGGPFPWVAVCAGVIL<br>CVRLRLQKHRPPADPCRGETETMNNLANCQREKDISVSIIGATQIKNTN<br>GFKARYPAVDYNLVQDLKGDDTAVRDAHSKRDTKCQPQSSGEEKGTPT<br>SGCSTSKDTKYQSVYVISEEKDECVIATEV                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 284              | -              | <b>DLL4 umană</b> | umană        | MAAASRSASGWALLLLVALWQORAAGSGVFQLQLQEFINERGVLASGRP<br>HFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWP<br>DDL RPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQNWLLDEQTSTLTRLRYSYRVC<br>KRNDHFGHYVCQPDGNLSCLPGWTGEYCQQPICLSGCHEQNGYCSKPAE<br>CIPHNGCRHGTCSTPWQCTCDEGWGGLFCDQDLNYCTHHSPCKNGATCSI<br>YTGVDCELELSECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGYGYGLHCEHSTL<br>ERNQGAN YACECPPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNRGSPSRMC<br>SDCARNPCA HGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRRCVVRTSIDACASSPCF<br>VCNCPYGFVGSRCFFPVGLPPSFPWVAVSLGVGLAVLLVLLGMVAVAVR<br>MNNLSDFQKDNLI PAAQLKNTNQKKELEVDCGLDKSNCGKQQNHTLDYN<br>FPHSDKSLGEXAPLRLHSEKPECRISAICSPRDSMYQSVCLISEERNEC |
| 285              | -              | <b>linker 1</b>   | artificială  | GGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 286              | -              | <b>linker 2</b>   | artificială  | GGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 287              | -              | <b>linker 3</b>   | artificială  | GGGGQ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 288              | -              | <b>linker 4</b>   | artificială  | SGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| SECV ID NR | epitop DLL3 | Denumire         | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------|-------------|------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 289        | -           | linker 5         | artificială  | PGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 290        | -           | linker 6         | artificială  | PGGDGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 291        | -           | linker 7         | artificială  | GGGGSGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 292        | -           | linker 8         | artificială  | GGGGSGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 293        | -           | linker 9         | artificială  | GGGGSGGGSGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 294        | -           | Hexa-his         | artificială  | HHHHHH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 295        | -           | Ab156            | artificială  | RDWDFDVFGGGTPVGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 296        | -           | FcRn BP liniar   | artificială  | QRFVTGHFGGLXPANG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 297        | -           | FcRn BP-Y liniar | artificială  | QRFVTGHFGGLYPANG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 298        | -           | FcRn BP-H liniar | artificială  | QRFVTGHFGGLHPANG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 299        | -           | nucleu FcRn BP-H | artificială  | TGHFGGLHP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 300        | -           | FcRn BP-H ciclic | artificială  | QRFCTGHFGGLHPCNG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 301        | -           | HALB             | umană        | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGKKLVAASQAALGL |
| 302        | -           | HALB varianta 1  | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire               | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------|----------------|------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                        |              | KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>GTFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAI<br>FAEEGKKLVAASQAALGL                                                                                                                                                                    |
| 303              | -              | <b>HALB varianta 2</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAI<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |
| 304              | -              | <b>HALB varianta 3</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAI<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPHLVAASKAALGL |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                         | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------|----------------|----------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 305              | -              | <b>HALB</b> varianta<br><b>4</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI                                                                                                                                  |
|                  |                |                                  |              | EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 306              | -              | <b>HALB</b> varianta<br><b>5</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |
| 307              | -              | <b>HALB</b> varianta<br><b>6</b> | artificială  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                   | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------|----------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                            |              | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPHLVAASQAALGL |
| 308             | -              | <b>HALB varianta<br/>7</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPHLVAASKAALGL |
| 309             | -              | <b>HALB varianta<br/>8</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASKAALGL |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------|----------------|-------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 310              | -              | <b>HALB varianta 9</b>  | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPKLVAAASKAALGL |
| 311              | -              | <b>HALB varianta 10</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGKLVAAASQAALGL  |
| 312              | -              | <b>HALB varianta 11</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                  |                |                         |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------|----------------|-----------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                             |              | CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>GTFTTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAI<br>FAEEGKKLVAAASQAALGL                                                                                                                                                                                                                          |
| 313              | -              | <b>HALB varianta<br/>12</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPKLVAAASQAALGL |
| 314              | -              | <b>HALB varianta<br/>13</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPHLVAAASKAALGL |
| 315              | -              | <b>HALB varianta<br/>14</b> | artificială  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------|----------------|-----------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |              | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI                                                                            |
|                 |                |                             |              | ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAA<br>FAEEGPKLVAASQAALGL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 316             | -              | <b>HALB varianta<br/>15</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAA<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |
| 317             | -              | <b>HALB varianta<br/>16</b> | artificială  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------|----------------|-----------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                             |              | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPHLVAASQAALGL |
| 318              | -              | <b>HALB varianta<br/>17</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPHLVAASKAALGL |
| 319              | -              | <b>HALB varianta<br/>18</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                  |                |                             |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------|----------------|-----------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                             |              | FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASKAALGL                                                                                                              |
| 320              | -              | <b>HALB varianta<br/>19</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASKAALGL |
| 321              | -              | <b>HALB varianta<br/>20</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKL VNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGKLVAAASQAALGL |
| 322              | -              | <b>HALB varianta<br/>21</b> | artificială  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------|----------------|-----------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                             |              | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAAI                                                                                                                                                                                        |
|                  |                |                             |              | PLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>GTFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAI<br>FAEEGKKLVAASQAALGL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 323              | -              | <b>HALB varianta<br/>22</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |
| 324              | -              | <b>HALB varianta<br/>23</b> | artificială  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------|----------------|-----------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |              | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAI<br>FAEEGPHLVAASKAALGL |
| 325             | -              | <b>HALB varianta<br/>24</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |
| 326             | -              | <b>HALB varianta<br/>25</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASQAALGL |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------|----------------|-------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 327              | -              | <b>HALB varianta 26</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPHLVAASQAALGL |
| 328              | -              | <b>HALB varianta 27</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSE<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPHLVAASKAALGL |
| 329              | -              | <b>HALB varianta 28</b> | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKA<br>KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                  |                |                         |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                            | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------|----------------|-------------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                     |              | CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASKAALGL                                                                                                                                                                                                                         |
| 330              | -              | <b>HALB varianta<br/>29</b>         | artificială  | DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFA<br>KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNI<br>FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA<br>KASSAQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT<br>CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADI<br>CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAI<br>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSI<br>EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSAI<br>ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAI<br>FAEEGPKLVAASKAALGL |
| 331              | -              | <b>HC corp de<br/>incrucișare 1</b> | artificială  | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV<br>SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCI<br>PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCI<br>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRIL<br>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQ<br>HNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                           |
| 332              | -              | <b>LC corp de<br/>incrucișare 1</b> | artificială  | GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVV<br>NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKTHTCI<br>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTH<br>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPI<br>CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSI<br>EALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                         |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                  | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------------------|----------------|---------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 333              | -              | HC corp de<br>incrușare 2 | artificială  | ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV<br>SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVEPKSSDKHTHTCPPC<br>PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRL<br>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR<br>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRWQ<br>HNHYTQKSLSLSPGK        |
| 334              | -              | LC corp de<br>incrușare 2 | artificială  | GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV<br>NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEPKSSD<br>GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV<br>TYRVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ<br>QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKL<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 335              | -              | Hetero-Fc ligand<br>Fc    | artificială  | DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>QVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                        |
| 336              | -              | Hetero -Fc<br>partener Fc | artificială  | DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>QVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYDTP<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                         |
| 337              | -              | Fc țintă maxi-<br>corp 1  | artificială  | EPKSSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                         | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|----------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 338              | -              | <b>Fc CD3 maxi-<br/>corp 1</b>   | artificială  | EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYITLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 339              | -              | <b>Fc țintă maxi-<br/>corp 2</b> | artificială  | EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYITLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK  |
| 340              | -              | <b>Fc CD3 maxi-<br/>corp 2</b>   | artificială  | EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYITLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 341              | -              | <b>Mono Fc</b>                   | artificială  | APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDVSHEDPEVKFNWYVI<br>EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ<br>EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFF                                                   |
|                  |                |                                  |              | GNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                   |
| 342              | -              | CDR-L1 al F6A                    | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                  |
| 343              |                | CDR-L2 al F6A                    | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                         |
| 344              |                | CDR-L3 al F6A                    | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                       |
| 345              |                | CDR-H1 al F6A                    | artificială  | IYAMN                                                                                                                                                                                                           |
| 346              |                | CDR-H2 al F6A                    | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKS                                                                                                                                                                                             |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                            |
|------------------|----------------|---------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 347              |                | CDR-H3 al F6A | artificială  | HGNFGNSYVSFFAY                                                                                                                                                                                                    |
| 348              |                | VH al F6A     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFA                                                                                                           |
| 349              |                | VL al F6A     | artificială  | QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFVGGGTKLTVL                                                                                                               |
| 350              |                | VH-VL al F6A  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFA<br>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW |
| 351              |                | CDR-L1 al H2C | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                    |
| 352              |                | CDR-L2 al H2C | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                           |
| 353              |                | CDR-L3 al H2C | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                         |
| 354              |                | CDR-H1 al H2C | artificială  | KYAMN                                                                                                                                                                                                             |
| 355              |                | CDR-H2 al H2C | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKD                                                                                                                                                                                               |
| 356              |                | CDR-H3 al H2C | artificială  | HGNFGNSYISYWAY                                                                                                                                                                                                    |
| 357              |                | VH al H2C     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA                                                                                                           |
| 358              |                | VL al H2C     | artificială  | QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFVGGGTKLTVL                                                                                                               |
| 359              |                | VH-VL al H2C  | artificială  |                                                                                                                                                                                                                   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                             |
|------------------|----------------|---------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |               |              | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA<br>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW |
| 360              |                | CDR-L1 al H1E | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                     |
| 361              |                | CDR-L2 al H1E | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                            |
| 362              |                | CDR-L3 al H1E | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                          |
| 363              |                | CDR-H1 al H1E | artificială  | SYAMN                                                                                                                                                                                                              |
| 364              |                | CDR-H2 al H1E | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKG                                                                                                                                                                                                |
| 365              |                | CDR-H3 al H1E | artificială  | HGNFGNSYLSFWAY                                                                                                                                                                                                     |
| 366              |                | VH al H1E     | artificială  | EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWA                                                                                                            |
| 367              |                | VL al H1E     | artificială  | QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                                 |
| 368              |                | VH-VL al H1E  | artificială  | EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWA<br>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW |
| 369              |                | CDR-L1 al G4H | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                     |
| 370              |                | CDR-L2 al G4H | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                            |
| 371              |                | CDR-L3 al G4H | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                          |
| 372              |                | CDR-H1 al G4H | artificială  | RYAMN                                                                                                                                                                                                              |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                  |
|------------------|----------------|---------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 373              |                | CDR-H2 al G4H | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKG                                                                                                                                                                                                     |
| 374              |                | CDR-H3 al G4H | artificială  | HGNFGNSYLSYFAY                                                                                                                                                                                                          |
| 375              |                | VH al G4H     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAY                                                                                                                |
| 376              |                | VL al G4H     | artificială  | QTVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                                     |
| 377              |                | VH-VL al G4H  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAY<br>GGSGGGGSGGGGSGTQTVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWV |
| 378              |                | CDR-L1 al A2J | artificială  | RSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                          |
| 379              |                | CDR-L2 al A2J | artificială  | ATDMRPS                                                                                                                                                                                                                 |
| 380              |                | CDR-L3 al A2J | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                               |
| 381              |                | CDR-H1 al A2J | artificială  | VYAMN                                                                                                                                                                                                                   |
| 382              |                | CDR-H2 al A2J | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKK                                                                                                                                                                                                     |
| 383              |                | CDR-H3 al A2J | artificială  | HGNFGNSYLSWWAY                                                                                                                                                                                                          |
| 384              |                | VH al A2J     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAY                                                                                                                |
| 385              |                | VL al A2J     | artificială  | QTVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                                     |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                           |
|------------------|----------------|---------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 386              |                | VH-VL al A2J  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWW<br>GGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPN                                                      |
|                  |                |               |              | IGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW                                                                                                                                                                |
| 387              |                | CDR-L1 al E1L | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                   |
| 388              |                | CDR-L2 al E1L | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                          |
| 389              |                | CDR-L3 al E1L | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                        |
| 390              |                | CDR-H1 al E1L | artificială  | KYAMN                                                                                                                                                                                                            |
| 391              |                | CDR-H2 al E1L | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKS                                                                                                                                                                                              |
| 392              |                | CDR-H3 al E1L | artificială  | HGNFGNSYTSYYAY                                                                                                                                                                                                   |
| 393              |                | VH al E1L     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKSRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYA                                                                                                           |
| 394              |                | VL al E1L     | artificială  | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                               |
| 395              |                | VH-VL al E1L  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKSRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYA<br>GGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW |
| 396              |                | CDR-L1 al E2M | artificială  | RSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                   |
| 397              |                | CDR-L2 al E2M | artificială  | ATDMRPS                                                                                                                                                                                                          |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                             |
|------------------|----------------|---------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 398              |                | CDR-L3 al E2M | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                          |
| 399              |                | CDR-H1 al E2M | artificială  | GYAMN                                                                                                                                                                                                              |
| 400              |                | CDR-H2 al E2M | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKE                                                                                                                                                                                                |
| 401              |                | CDR-H3 al E2M | artificială  | HRNFGNSYLSWFAY                                                                                                                                                                                                     |
| 402              |                | VH al E2M     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKERFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFA                                                                                                            |
| 403              |                | VL al E2M     | artificială  | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFVGGGTKLTVL                                                                                                                |
| 404              |                | VH-VL al E2M  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKERFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFA<br>GGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPN<br>IGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWV |
| 405              |                | CDR-L1 al F7O | artificială  | GSSTGAVTSGYYPN                                                                                                                                                                                                     |
| 406              |                | CDR-L2 al F7O | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                            |
| 407              |                | CDR-L3 al F7O | artificială  | ALWYSNRWV                                                                                                                                                                                                          |
| 408              |                | CDR-H1 al F7O | artificială  | VYAMN                                                                                                                                                                                                              |
| 409              |                | CDR-H2 al F7O | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKK                                                                                                                                                                                                |
| 410              |                | CDR-H3 al F7O | artificială  | HGNFGNSYISWWAY                                                                                                                                                                                                     |
| 411              |                | VH al F7O     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISWWA                                                                                                             |
| 412              |                | VL al F7O     | artificială  |                                                                                                                                                                                                                    |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire       | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                             |
|------------------|----------------|----------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                |              | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                                |
| 413              |                | VH-VL al F70   | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVMYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWW<br>GGSGGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRW |
| 414              |                | CDR-L1 al F12Q | artificială  | GSSTGAVTSGNYPN                                                                                                                                                                                                     |
| 415              |                | CDR-L2 al F12Q | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                                                                            |
| 416              |                | CDR-L3 al F12Q | artificială  | VLWYSNRWV                                                                                                                                                                                                          |
| 417              |                | CDR-H1 al F12Q | artificială  | SYAMN                                                                                                                                                                                                              |
| 418              |                | CDR-H2 al F12Q | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKG                                                                                                                                                                                                |
| 419              |                | CDR-H3 al F12Q | artificială  | HGNFGNSYVSWWAY                                                                                                                                                                                                     |
| 420              |                | VH al F12Q     | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWW                                                                                                             |
| 421              |                | VL al F12Q     | artificială  | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                                                                                |
| 422              |                | VH-VL al F12Q  | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWW<br>GGSGGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN<br>IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRW  |
| 423              |                | CDR-L1 al I2C  | artificială  | GSSTGAVTSGNYPN                                                                                                                                                                                                     |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire        | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                      |
|------------------|----------------|-----------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 424              |                | CDR-L2 al I2C   | artificială  | GTKFLAP                                                                                                                                                     |
| 425              |                | CDR-L3 al I2C   | artificială  | VLWYSNRWV                                                                                                                                                   |
| 426              |                | CDR-H1 al I2C   | artificială  | KYAMN                                                                                                                                                       |
| 427              |                | CDR-H2 al I2C   | artificială  | RIRSKYNNYATYYADSVKD                                                                                                                                         |
| 428              |                | CDR-H3 al I2C   | artificială  | HGNFGNSYISYWAY                                                                                                                                              |
| 429              |                | VH al I2C       | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWA                                                      |
| 430              |                | VL al I2C       | artificială  | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQOKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                        |
| 431              |                | VH-VL al I2C    | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWA<br>GGSGGGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN |
|                  |                |                 |              | IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW                                                                                                           |
| 432              |                | F12q VH al F12q | artificială  | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYVSWWA                                                      |
| 433              |                | VL al F12q      | artificială  | QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQOKPGQAPRGL<br>FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL                                                        |
| 434              |                | VH-VL al F12q   | artificială  |                                                                                                                                                             |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                             | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------|----------------|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                      |                         | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVA<br>DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWW<br>GGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP<br>LGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW                                                                                                                                                                                                                             |
| 435              |                | <b>DLL3-4-001<br/>(G44C)</b>         | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGIFYFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 436              |                | <b>DLL3-4-001<br/>(G234 C)</b>       | VL                      | EIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQGAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 437              |                | <b>DLL3-4-001<br/>(G44C- G243C )</b> | scFv                    | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGIFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLE                                                                                                                                                                                                                     |
| 438              |                | <b>DLL3-4-001<br/>(CC) xI2C</b>      | moleculă<br>bispecifică | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGIFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLE<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG |
|                  |                |                                      |                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                       | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                |
|------------------|----------------|--------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 439              |                | <b>DLL3-14-D55E</b>            | VH-CDR2      | IINPSEGSTSYAQKFQG                                                                                     |
| 440              |                | <b>DLL3-14-G56A</b>            | VH-CDR2      | IINPSDASTSYAQKFQG                                                                                     |
| 441              |                | <b>DLL3-14-D171E</b>           | VL-CDR1      | RSSQSLVYREGNTYLS                                                                                      |
| 442              |                | <b>DLL3-14-G172A</b>           | VL-CDR1      | RSSQSLVYRDANTYLS                                                                                      |
| 443              |                | <b>DLL3-14-N173Q</b>           | VL-CDR1      | RSSQSLVYRDGQTYLS                                                                                      |
| 444              |                | <b>DLL3-14-T174A</b>           | VL-CDR1      | RSSQSLVYRDGNAYLS                                                                                      |
| 445              |                | <b>DLL3-14-L43Q</b>            | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |
| 446              |                | <b>DLL3-14-D55E</b>            | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |
| 447              |                | <b>DLL3-14-G56A</b>            | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |
| 448              |                | <b>DLL3-14 -L43Q-<br/>D55E</b> | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |
| 449              |                | <b>DLL3-14-L43Q-<br/>G56A</b>  | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |
| 450              |                | <b>DLL3-14-G44C</b>            | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                      | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                   |
|------------------|----------------|-------------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 451              |                | <b>DLL3-14-L43Q-G44C</b>      | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV    |
| 452              |                | <b>DLL3-14-G44C-D55E</b>      | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV    |
| 453              |                | <b>DLL3-14-G44C-G56A</b>      | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV    |
| 454              |                | <b>DLL3-14-L43Q-G44C-D55E</b> | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV    |
| 455              |                | <b>DLL3-14-L43Q-G44C-G56A</b> | VH           | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV    |
| 456              |                | <b>DLL3-14-D171E</b>          | VL           | DVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTEFGQGTKVEIK |
| 457              |                | <b>DLL3-14-G172A</b>          | VL           | DVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTEFGQGTKVEIK |
| 458              |                | <b>DLL3-14-N173Q</b>          | VL           |                                                                                                          |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                        | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                    |
|------------------|----------------|---------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                 |              | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGQGTKVEIK |
| 459              |                | <b>DLL3-14-T174A</b>            | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGQGTKVEIK |
| 460              |                | <b>DLL3-14-G208S</b>            | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGQGTKVEIK |
| 461              |                | <b>DLL3-14-D171EG208S</b>       | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGQGTKVEIK |
| 462              |                | <b>DLL3-14 G172A<br/>-G208S</b> | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGQGTKVEIK |
| 463              |                | <b>DLL3-14-Q243C</b>            | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGCGTKVEIK |
| 464              |                | <b>DLL3-14-D171E-Q243C</b>      | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGCGTKVEIK |
| 465              |                | <b>DLL3-14-G172A<br/>Q243C</b>  | VL           | DVVMQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFFQQRPGQSPH<br>PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPTFGCGTKVEIK |
| 466              |                | <b>DLL3-14<br/>N173Q Q243C</b>  | VL           |                                                                                                           |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                                    | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                            |
|------------------|----------------|---------------------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                             |              | DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIK                                                                                                          |
| 467              |                | <b>DLL3-14<br/>T174A- Q243C</b>             | - VL         | DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIK                                                                                                          |
| 468              |                | <b>DLL3-14<br/>G208S- Q243C</b>             | - VL         | DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIK                                                                                                          |
| 469              |                | <b>DLL3-14-<br/>D171E- G208S-<br/>Q243C</b> | VL           | DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIK                                                                                                          |
| 470              |                | <b>DLL3-14-G172A<br/>G208S-Q243C</b>        | VL           | DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFFQQRPGQSP<br>PDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIK                                                                                                          |
| 471              |                | <b>DLL3- 14-001</b>                         | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVSNNQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWP |
| 472              |                | <b>DLL3- 14-002</b>                         | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSNNQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVIYCMQGTHWP |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire            | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|---------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 473              |                | <b>DLL3-14 -003</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 474              |                | <b>DLL3-14 -004</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 475              |                | <b>DLL3-14 -005</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 476              |                | <b>DLL3-14 -006</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 477              |                | <b>DLL3-14 -007</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 478              |                | <b>DLL3-14 -008</b> | scFv         |                                                                                                                                                                                                                 |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                     | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                               |
|------------------|----------------|------------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                              |              | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 479              |                | <b>DLL3-14 -009</b>          | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 480              |                | <b>DLL3-14 -010</b>          | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 481              |                | <b>DLL3-14 -011</b>          | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                              |
|                  |                |                              |              | GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI                                                                                                            |
| 482              |                | <b>DLL3-14 -012<br/>(CC)</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 483              |                | <b>DLL3-14-013</b>           | scFv         |                                                                                                                                                                                                                      |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire           | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                            |
|------------------|----------------|--------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                    |              | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 484              |                | <b>DLL3-14-014</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 485              |                | <b>DLL3-14-015</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 486              |                | <b>DLL3-14-016</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 487              |                | <b>DLL3-14-017</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 488              |                | <b>DLL3-14-018</b> | scFv         |                                                                                                                                                                                                                   |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire           | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                |
|------------------|----------------|--------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                    |              | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 489              |                | <b>DLL3-14-019</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 490              |                | <b>DLL3-14-020</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 491              |                | <b>DLL3-14-021</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 492              |                | <b>DLL3-14-022</b> | scFv         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVM TQTPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVS NWQSGVPDR FSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI |
| 493              |                | <b>DLL3-14-023</b> | scFv         |                                                                                                                                                                                                                       |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI                                                                                                                                                                                                                          |
| 494             |                | <b>DLL3-14-001<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 495             |                | <b>DLL3-14-002<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS                                                            |
|                 |                |                             |                         | PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 496             |                | <b>DLL3-14-003<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 497             |                | <b>DLL3-14-004<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 498             |                | <b>DLL3-14-005<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 499             |                | <b>DLL3-14-006<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL                                                                                                                                                                      |
|                 |                |                             |                         | TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 500             |                | <b>DLL3-14-007<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 501             |                | <b>DLL3-14-008<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 502             |                | <b>DLL3-14-009<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 503             |                | <b>DLL3-14-010<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                 |                |                             |                         | LIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L                                                                                                                                                             |
| 504             |                | <b>DLL3-14-011<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                         | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------|----------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 505             |                | <b>DLL3-14-012<br/>(CC) xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 506             |                | <b>DLL3-14-013<br/>xI2C</b>      | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 507             |                | <b>DLL3-14-014<br/>xI2C</b>      | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 508             |                | <b>DLL3-14-015<br/>xI2C</b>      | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 509             |                | <b>DLL3-14-016<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 510             |                | <b>DLL3-14-017<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS                                                           |
|                 |                |                             |                         | PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 511             |                | <b>DLL3-14-018<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 512             |                | <b>DLL3-14-019<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 513             |                | <b>DLL3-14-020<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>L |
| 514             |                | <b>DLL3-14-021<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                    | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------|----------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                             |                         | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL                                                                                                                                                                     |
|                 |                |                             |                         | TYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 515             |                | <b>DLL3-14-022<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |
| 516             |                | <b>DLL3-14-023<br/>xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTY<br>LIYKVSINWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>L |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                         | Format/Sursă             | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|----------------|----------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 517             |                | <b>DLL3-4 xI2C - scFc</b>        | moleculă HLE bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRP<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGG<br>ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS |
|                 |                |                                  |                          | LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>KSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSG<br>SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP<br>PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br>KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                |
| 518             |                | <b>DLL3-4 xI2C - scFc_d eIGK</b> | moleculă HLE bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                             | Format/Sursă                | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------|----------------|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                      |                             | <p>QVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGY<br/> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFFDYWGQGTI<br/> GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLS CRASQRVNNNYLAWYQQRPGL<br/> TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLE<br/> ESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br/> RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br/> GGGSGGGGSQTVVTVQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br/> FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT<br/> TCPGPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br/> KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br/> LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br/> KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG<br/> KTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED<br/> HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br/> VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br/> TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| 519             |                | <b>DLL3-4-001<br/>(CC) xI2C-scFc</b> | moleculă HLE<br>bispecifică | <p>QVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGY<br/> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASI AVTGFFDYWGQGTI<br/> GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLS CRASQRVNNNYLAWYQQRPGL<br/> TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLE<br/> ESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br/> RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br/> GGGSGGGGSQTVVTVQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br/> FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT<br/> TCPGPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br/> KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br/> LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br/> KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG</p>                                                                                                                                                                                                                 |
|                 |                |                                      |                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                                         | Format/Sursă                  | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------|--------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                                  |                               | SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK<br>EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br>PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD<br>KLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 520             |                | <b>DLL3-4-001<br/>(CC) xI2C-scFc<br/>_delG K</b> | moleculă HLE<br>bispecifică   | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIATGTFYFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRP<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKL<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQQ<br>GGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD<br>KSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGG<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK<br>HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV<br>TVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 521             |                | <b>DLL3-6xI2C<br/>scFc</b>                       | - moleculă HLE<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                       | Format/Sursă             | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------|----------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                |                          | QVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGT<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGT<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQ<br>FLAPGTPARFSGSLGGAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSG<br>SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP |
|                 |                |                                |                          | PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT<br>KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 522             |                | <b>DLL3-6 xI2C-scFc_d eIGK</b> | moleculă HLE bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                             | Format/Sursă                | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------|----------------|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |                                      |                             | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED<br>HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 523              |                | <b>DLL3-6-001<br/>(CC) xI2C-scFc</b> | moleculă HLE<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG<br>SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP<br>PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKT<br>KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                                                     | Format/Sursă                | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------|----------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 524             |                | <b>DLL3-6-001</b><br>(CC) <b>xI2C-</b><br><b>scFc_d eIGK</b> | moleculă HLE<br>bispecifică | QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGO<br>GGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTSGSSTGAVTSGNYPNWVQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI<br>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGG<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDI<br>HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK              |
| 525             |                | <b>DLL3-14</b> <b>xI2C-</b><br><b>scFc</b>                   | moleculă HLE<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLVSPGGTVTLTSGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG<br>GGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br>SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG<br>SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                              | Format/Sursă                | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------|----------------|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 526              |                | <b>DLL3-14</b>                        | HLE<br>bispecifică          | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMG<br>FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                  |                | <b>xI2C-scFc_d<br/>elGK</b>           | moleculă                    | GSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGLSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVI<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAI<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGG<br>GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV<br>NWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br>AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 527              |                | <b>DLL3-14-012<br/>(CC) xI2C-scFc</b> | moleculă HLE<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                                          | Format/Sursă                | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------|----------------|---------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                                   |                             | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI<br>GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLI<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSY<br>VSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTSGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY<br>LGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVI<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG<br>GGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCK<br>SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG<br>SDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 528             |                | <b>DLL3-14-012<br/>(CC) xI2C-<br/>scFc_d eIGK</b> | moleculă HLE<br>bispecifică | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWRQAPGLCLEWMG<br>FQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDV<br>GSGGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY<br>LIYKVSNNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                 |                |                                                   |                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                        | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------|----------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                 |                         | GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL<br>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY<br>VSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS<br>PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS<br>LGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYV<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGG<br>GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC<br>NWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br>AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE<br>GSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 529             |                | <b>DLL3-6-001<br/>(CC)</b>      | VH                      | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 530             |                | <b>DLL3-6-001<br/>(CC)</b>      | VL                      | EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLI<br>SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 531             |                | <b>DLL3-6-001<br/>(CC)</b>      | scFv                    | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGT<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 532             |                | <b>DLL3-6-001<br/>(CC) xI2C</b> | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                       | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|----------------|--------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                |              | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIG<br>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGTI<br>GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPG<br>TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKV<br>ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK<br>RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ<br>GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQ<br>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG |
| 533             |                | Fc monom er-1<br>+c/-g         |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                    |
| 534             |                | Fc monom er-2<br>+c/-g/ delGK  |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP                                                                                                                                                                                                                                      |
| 535             |                | Fc monom er-3 -<br>c/+g        |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK                                                                                                                                                                                                                                    |
| 536             |                | Fc monom er-4 -<br>c/+g/ delGK |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH<br>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP                                                                                                                                                                                                                                      |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                       | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                  |
|------------------|----------------|--------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 537              |                | Fc monom er-5 -<br>c/-g        |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 538              |                | Fc monom er-6 -<br>c/-g/ delGK |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP   |
| 539              |                | Fc monom er-7<br>+c/+g         |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 540              |                | Fc monom                       |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII                                                                                                 |
|                  |                | er-8<br>delGK                  | +c/+g/       | QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP                                                                                                              |
| 541              |                | scFc-1                         |              |                                                                                                                                                                                                         |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|----------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |          |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG<br>GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 542              |                | scFc-2   |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH<br>VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGG<br>GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>GVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br>REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP      |
| 543              |                | scFc-3   |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH<br>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP<br>LTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG<br>GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 544              |                | scFc-4   |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|----------------|----------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |          |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGG<br>GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br>REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK                                                 |
|                  |                |          |              | YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 545              |                | scFc-5   |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGG<br>GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVI<br>VDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN<br>FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 546              |                | scFc-6   |              | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGG<br>GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br>REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP       |
| 547              |                | scFc-7   |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| SEC<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire                               | Format/Sursă            | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------|----------------|----------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 |                |                                        |                         | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGG<br>GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>VDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALP<br>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>FI.YSKI.LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 548             |                | scFc-8                                 |                         | DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEI<br>VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPII<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPI<br>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGG<br>GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV<br>GVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTIVLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALP<br>REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP            |
| 549             |                | linker (G <sub>4</sub> S) <sub>4</sub> |                         | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 550             |                | linker (G <sub>4</sub> S) <sub>5</sub> |                         | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 551             |                | linker (G <sub>4</sub> S) <sub>6</sub> |                         | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 552             |                | linker (G <sub>4</sub> S) <sub>7</sub> |                         | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 553             |                | linker (G <sub>4</sub> S) <sub>8</sub> |                         | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 554             |                | DLL3-22                                | moleculă<br>bispecifică |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

| SECV<br>ID<br>NR | epitop<br>DLL3 | Denumire | Format/Sursă | Secvență de aminoacizi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------|----------------|----------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  |                |          |              | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSISSYYWTWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTN<br>QFSLKLSSVTAADTAVYYCASIAVRGFFFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSEI<br>TLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR<br>PLTFGGGTKEIKRSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRO<br>NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW<br>GGSGGGGSQTIVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG<br>LGGAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH |

**(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:**

- WO-A1-2014/125273
- WO-A1-2016/016859
- WO-A2-2008/119567
- WO-A2-2013/126746

**(57) Revendicări:**

1. Construct de anticorp bispecific cuprinzând un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 uman pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 uman pe suprafața unei celule T și CD3 de macac, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 258, în care primul domeniu de legare cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectate din grupul constând din:

a) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 31, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 32, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 33, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 34, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 35 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 36;

b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 41, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 42, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 43, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 44, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 45 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 46;

c) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 51, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 52, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 53, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 54, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 55 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 56;

d) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 61, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 62, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 63, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 64, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 65 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 66;

e) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 71, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 72, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 73, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 74, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 75 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 76;

f) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 81, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 82, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 83, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 84, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 85 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 86;

g) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 91, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 92, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 93, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 94, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 95 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 96;

h) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 101, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 102, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 103, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 104, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 105 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 106; și

i) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 111, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 112, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 113, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 114, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 115 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 116.

2. Construct de anticorp conform revendicării 1, în care primul domeniu de legare se leagă în continuare la DLL3 de macac, de preferință la DLL3 de *Macaca fascicularis*.

3. Construct de anticorp conform revendicării 1 sau 2, în care al doilea domeniu de legare se leagă de CD3 epsilon uman și de CD3 epsilon de *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* sau *Saimiri sciureus*.

4. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările precedente, în care constructul de anticorp este într-un format selectat din grupul constând din (scFv)<sub>2</sub>, mAb cu domeniu unic scFv, diacorpi și oligomeri din formatele precedente.

5. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 4, în care primul domeniu de legare cuprinde

a) o regiune VH selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 37, SECV ID NR: 47, SECV ID NR: 57, SECV ID NR: 67, SECV ID NR: 77, SECV ID NR: 87, SECV ID NR: 97, SECV ID NR: 107, SECV ID NR: 117, SECV ID NR: 435 și SECV ID NR: 529; și/sau

b) o regiune VL selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 38, SECV ID NR: 48, SECV ID NR: 58, SECV ID NR: 68, SECV ID NR: 78, SECV ID NR: 88, SECV ID NR: 98, SECV ID NR: 108, SECV ID NR: 118, SECV ID NR: 436 și SECV ID NR: 530.

6. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 5, în care primul domeniu de legare cuprinde

a) o regiune VH și o regiune VL selectată din grupul constând din perechi dintr-o regiune VH și o regiune VL așa cum este descrisă în SECV ID NR: 37+38; SECV ID NR: 47+48; SECV ID NR: 57+58; SECV ID NR: 67+68; SECV ID NR: 77+78; SECV ID NR: 87+88; SECV ID NR: 97+98; SECV ID NR: 107+108; SECV ID NR: 117+118; SECV ID NR: 435+436; și SECV ID NR: 529+530, și/sau

b) o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 39, SECV ID NR: 49, SECV ID NR: 59, SECV ID NR: 69, SECV ID NR: 79, SECV ID NR: 89, SECV ID NR: 99, SECV ID NR: 109, SECV ID NR: 119, SECV ID NR: 437 și SECV ID NR: 531.

7. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 6, cuprinzând o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 40, SECV ID NR: 50, SECV ID NR: 60, SECV ID NR: 70, SECV ID NR: 80, SECV ID NR: 90, SECV ID NR: 100, SECV ID NR: 110, SECV ID NR: 120, SECV ID NR: 211, SECV ID NR: 212, SECV ID NR: 213, SECV ID NR: 214, SECV ID NR: 215, SECV ID NR: 216, SECV ID NR: 217, SECV ID NR: 438 și SECV ID NR: 532.

8. Construct de anticorp bispecific cuprinzând un prim domeniu de legare care se leagă de DLL3 umană pe suprafața unei celule țintă și un al doilea domeniu de legare care se leagă de CD3 umană pe suprafața unei celule T și CD3 de macac, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 260, în care primul domeniu de legare se leagă de un epitop al DLL3 care este cuprins în regiune așa cum este descris în SECV ID NR.: 259, în care primul domeniu de legare cuprinde o regiune VH cuprinzând CDR-H1, CDR-H2 și CDR-H3 și o regiune VL cuprinzând CDR-L1, CDR-L2 și CDR-L3 selectată din grupul constând din:

a) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 121, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 122, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 123, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 124, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 125 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 126;

b) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

c) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 141, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 142, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 143, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 144, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 145 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 146;

d) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 151, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 152, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 153, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 154, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 155 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 156;

e) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 161, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 162, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 163, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 164, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 165 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 166;

f) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 439, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

g) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 440, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 134, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

h) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 441, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

i) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 442, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

j) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 443, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

k) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 132, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 444, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136;

l) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 439, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 441, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136; și

m) CDR-H1 cum s-a descris în SECV ID NR: 131, CDR-H2 cum s-a descris în SECV ID NR: 440, CDR-H3 cum s-a descris în SECV ID NR: 133, CDR-L1 cum s-a descris în SECV ID NR: 442, CDR-L2 cum s-a descris în SECV ID NR: 135 și CDR-L3 cum s-a descris în SECV ID NR: 136.

9. Construct de anticorp conform revendicării 8, în care primul domeniu de legare se leagă în continuare la DLL3 de macac, de preferință la DLL3 de *Macaca fascicularis*.

10. Construct de anticorp conform revendicării 8 sau 9, în care al doilea domeniu de legare se leagă de CD3 epsilon uman și de CD3 epsilon de *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* sau *Saimiri sciureus*.

11. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările precedente, în care constructul de anticorp este într-un format selectat din grupul constând din (scFv)<sub>2</sub>, mAb cu domeniu unic scFv, diacorpi și oligomeri din formatele precedente.

12. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 8 până la 11, în care primul domeniu de legare cuprinde

a) o regiune VH selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 127, SECV ID NR: 137, SECV ID NR: 147, SECV ID NR: 157, SECV ID NR: 167, SECV ID NR: 445, SECV ID NR: 446, SECV ID NR: 447, SECV ID NR: 448, SECV ID NR: 449, SECV ID NR: 450, SECV ID NR: 451, SECV ID NR: 452, SECV ID NR: 453, SECV ID NR: 454, și SECV ID NR: 455; și/sau

b) o regiune VL selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 128, SECV ID NR: 138, SECV ID NR: 148, SECV ID NR: 158, SECV ID NR: 168, SECV ID NR: 456, SECV ID NR: 457, SECV ID NR: 458, SECV ID NR: 459, SECV ID NR: 460, SECV ID NR: 461, SECV ID NR: 462, SECV ID NR: 463, SECV ID NR: 464, SECV ID NR: 465, SECV ID NR: 466, SECV ID NR: 467, SECV ID NR: 468, SECV ID NR: 469, și SECV ID NR: 470.

13. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 8 până la 12, în care primul domeniu de legare cuprinde

a) o regiune VH și o regiune VL selectate din grupul constând din perechi dintr-o regiune VH și o regiune VL așa cum este descris în SECV ID NRs: 127+128; SECV ID NRs: 137+138; SECV ID NRs: 147+148; SECV ID NRs: 157+158; SECV ID NRs: 167+168; SECV ID NRs 137+456; SECV ID NRs 137+457; SECV ID NRs 137+458; SECV ID NRs 137+459; SECV ID NRs 137+460; SECV ID NRs 445+138; SECV ID NRs 446+138; SECV ID NRs 447+138; SECV ID NRs 445+460; SECV ID NRs 448+461; SECV ID NRs 449+462; SECV ID NRs 450+463; SECV ID NRs 450+464; SECV ID NRs 450+465; SECV ID NRs 450+466; SECV ID NRs 450+467; SECV ID NRs 450+468; SECV ID NRs 451+463; SECV ID NRs 452+463; SECV ID NRs 453+463; SECV ID NRs 451+468; SECV ID NRs 454+469; și SECV ID NRs 455+470; și/sau

b) o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 129, SECV ID NR: 139, SECV ID NR: 149, SECV ID NR: 159, SECV ID NR: 169, SECV ID NR: 471, SECV ID NR: 472, SECV ID NR: 473, SECV ID NR: 474, SECV ID NR: 475, SECV ID NR: 476, SECV ID NR: 477, SECV ID NR: 478, SECV ID NR: 479, SECV ID NR: 480, SECV ID NR: 481, SECV ID NR: 482, SECV ID NR: 483, SECV ID NR: 484, SECV ID NR: 485, SECV ID NR: 486, SECV ID NR: 487, SECV ID NR: 488, SECV ID NR: 489, SECV ID NR: 490, SECV ID NR: 491, SECV ID NR: 492, și SECV ID NR: 493.

14. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 8 până la 13, cuprinzând o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 130, SECV ID NR: 140, SECV ID NR: 150, SECV ID NR: 160, SECV ID NR: 170; SECV ID NR: 218, SECV ID NR: 219, SECV ID NR: 220, SECV ID NR: 494, SECV ID NR: 495, SECV ID NR: 496, SECV ID NR: 497, SECV ID NR: 498, SECV ID NR: 499, SECV ID NR: 500, SECV ID NR: 501, SECV ID NR: 502, SECV ID NR: 503, SECV ID NR: 504, SECV ID NR: 505, SECV ID NR: 506, SECV ID NR: 507, SECV ID NR: 508, SECV ID NR: 509, SECV ID NR: 510, SECV ID NR: 511, SECV ID NR: 512, SECV ID NR: 513, SECV ID NR: 514, SECV ID NR: 515, și SECV ID NR: 516.

15. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1-7, cuprinzând sau constând dintr-o polipeptidă selectată din grupul constând din cele descrise în SECV ID NR: 517, SECV ID NR: 518, SECV ID NR: 519, SECV ID NR: 520, SECV ID NR: 521, SECV ID NR: 522, SECV ID NR: 523, SECV ID NR: 524.

16. Polinucleotidă care codifică un construct de anticorp așa cum este definit în oricare dintre revendicările precedente.

17. Vector cuprinzând o polinucleotidă conform definiției din revendicarea 16.

18. Celulă gazdă transformată sau transfectată cu polinucleotida definită în revendicarea 16 sau cu vectorul definit în revendicarea 17.

19. Procedeu pentru producerea unui construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 15, procedeul menționat cuprinzând cultivarea unei celule gazdă, astfel cum este definită în revendicarea 18, în condiții care permit exprimarea respectivului construct de anticorp și recuperarea constructului de anticorp produs din cultură.

20. Compoziție farmaceutică cuprinzând un construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările de la 1 până la 15 sau produsă conform procedurii din revendicarea 19.

21. Construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 15, sau produs conform procedurii din revendicarea 19, pentru utilizare în prevenirea, tratamentul sau ameliorarea unei tumori sau boli canceroase sau a unei boli canceroase metastatice.

22. Construct de anticorp pentru utilizare conform revendicării 21, în care tumoarea sau boala canceroasă este selectată din grupul constând din cancer pulmonar, de preferință SCLC, sân, col uterin, colon, colorectal, endometrial, cap și gât, ficat, ovarian, pancreatic, prostată, piele, gastric, testicul, tiroidă, suprarenală, renală, vezicală, uterină, esofagiană, urotelială și tumoare cerebrală sau cancer, limfom, carcinom și sarcom și o boală canceroasă metastatică derivată din oricare dintre cele de mai sus.

23. Kit care cuprinde un construct de anticorp conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 15, un construct de anticorp produs conform procedurii din revendicarea 19, o polinucleotidă definită în revendicarea 16, un vector definit în revendicarea 17 și/sau o celulă gazdă definită în revendicarea 18.

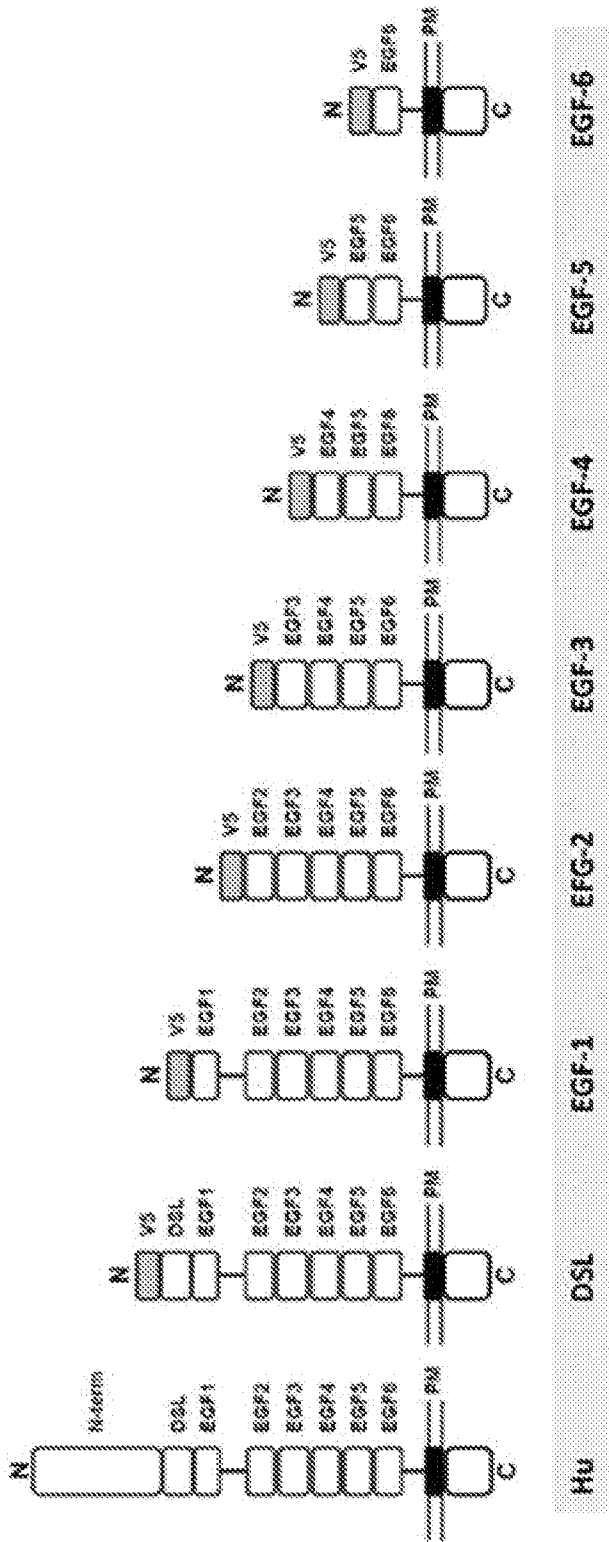


Figure 1

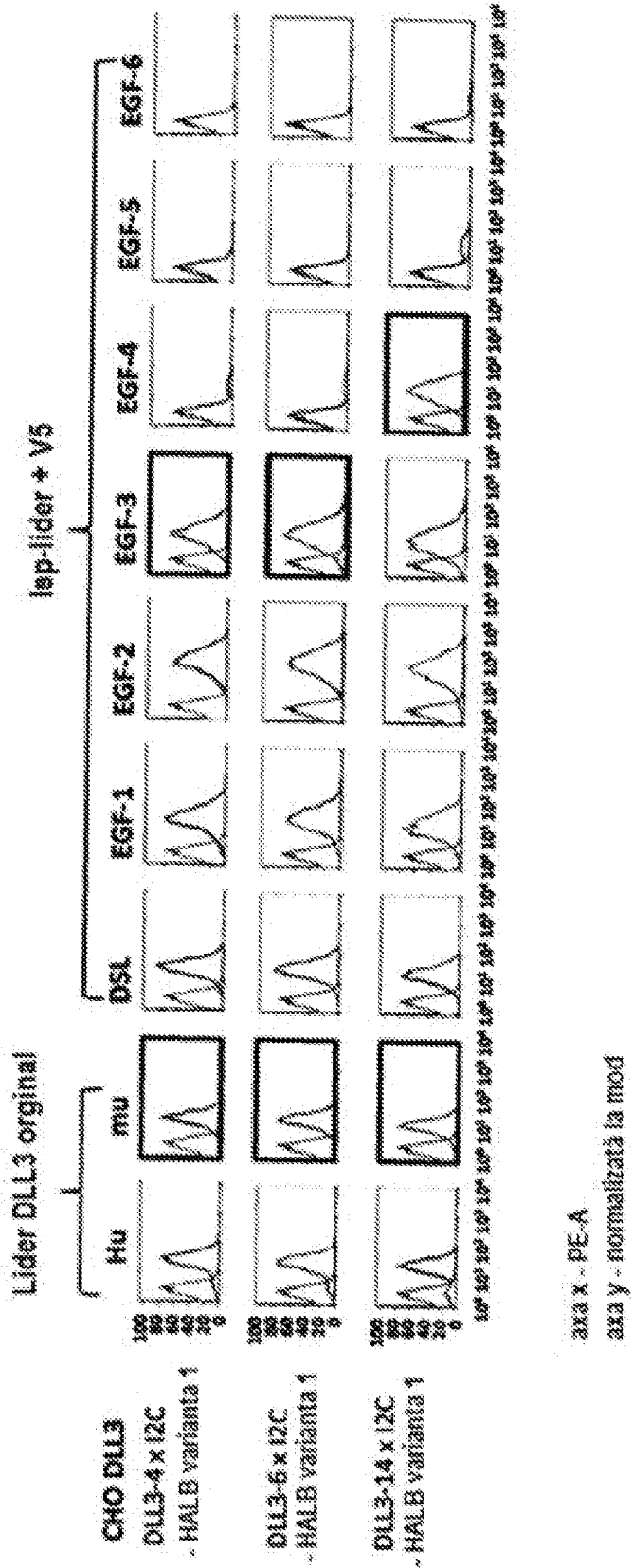


Figura 2

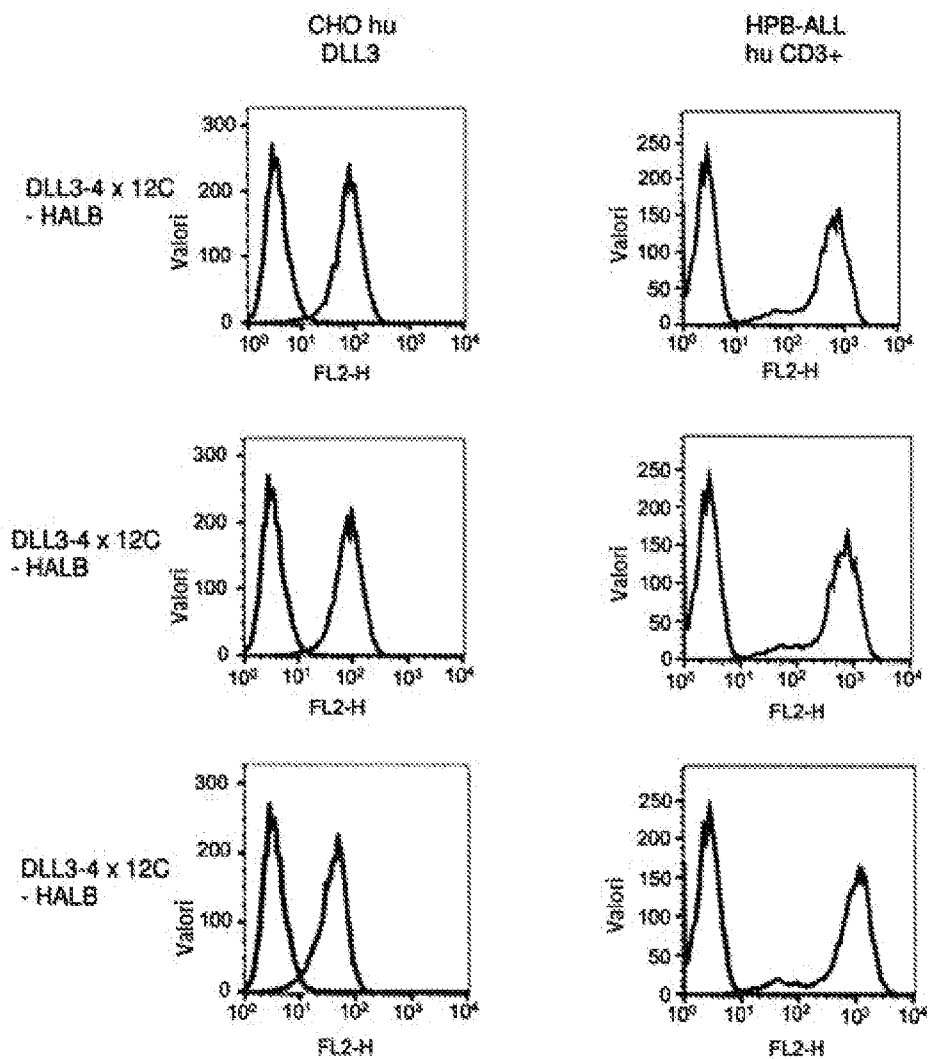


FIGURA 3A

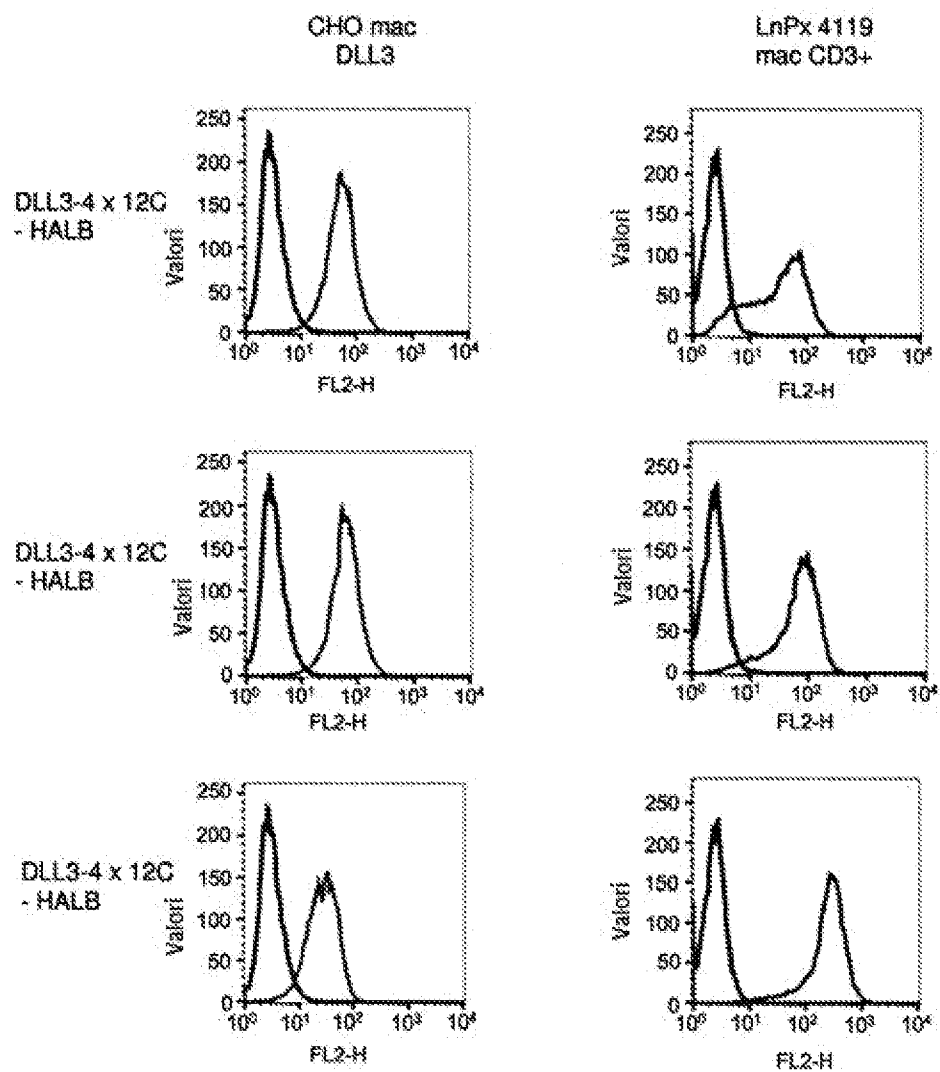


FIGURA 3B

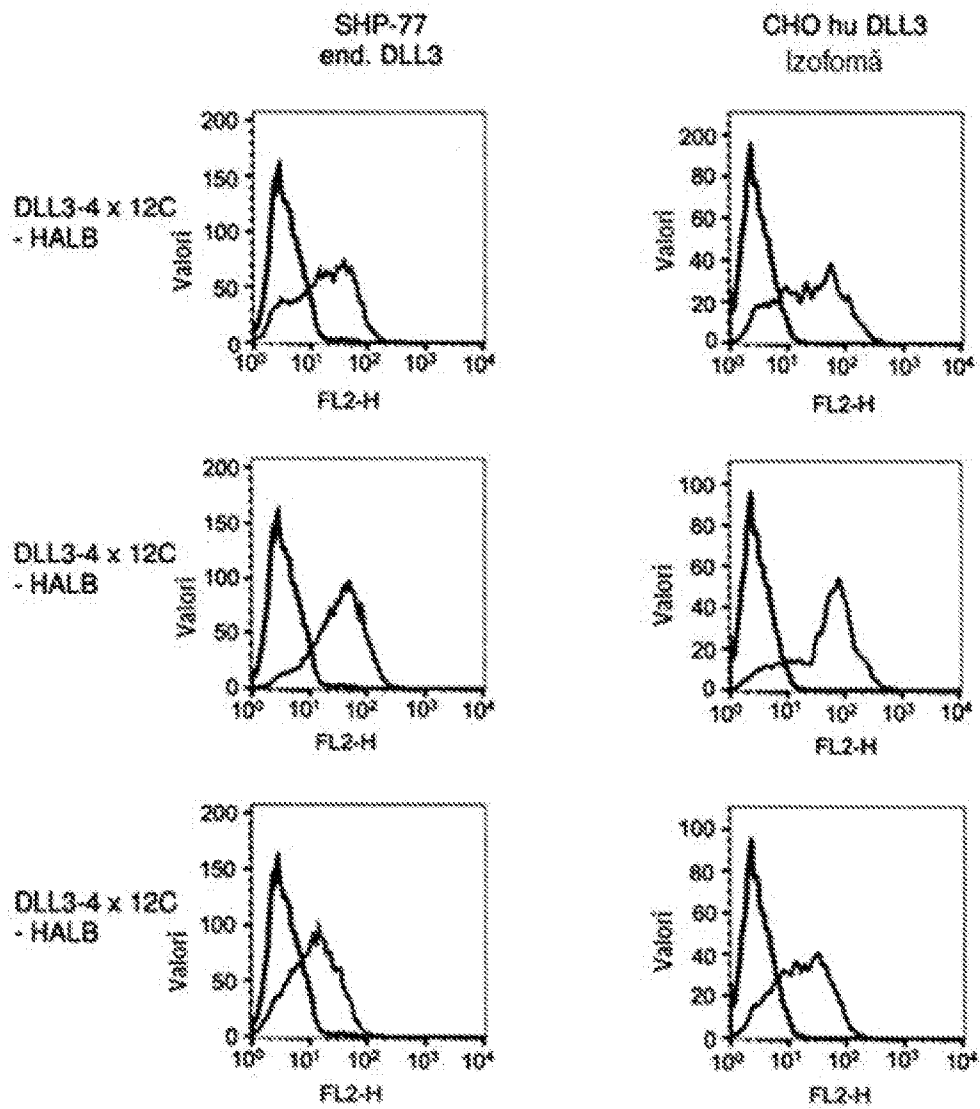


FIGURA 3C

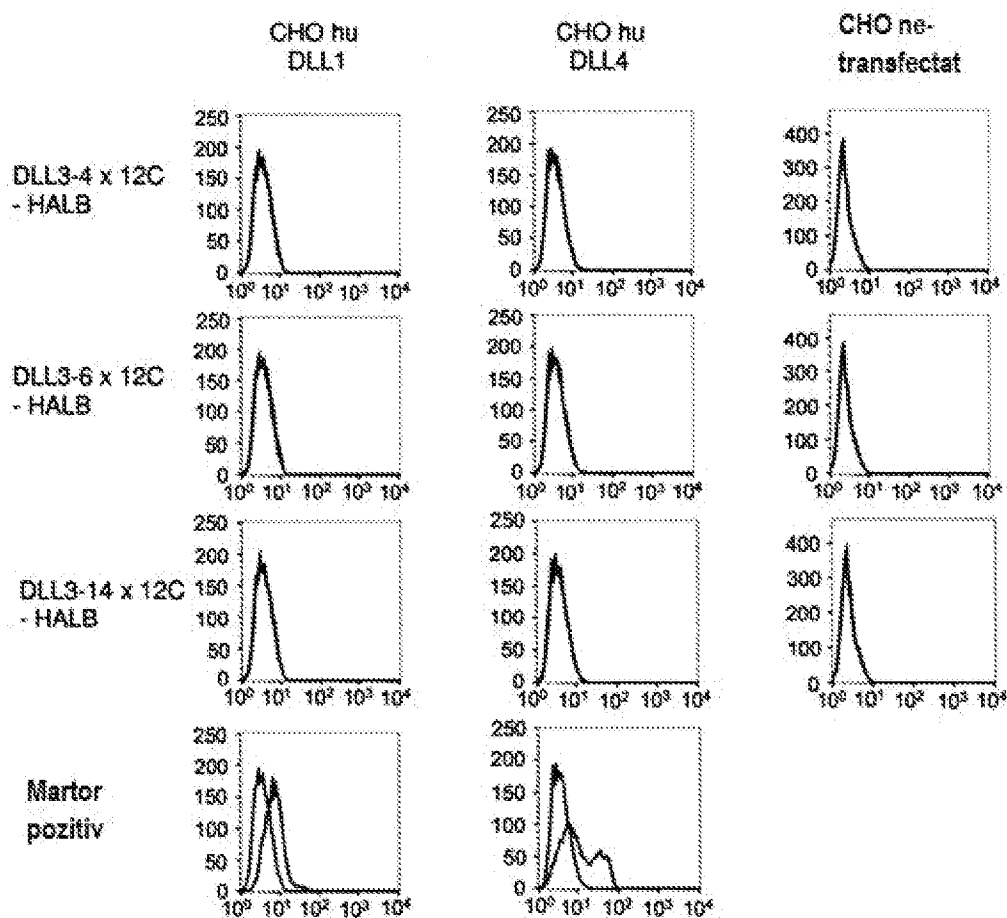


FIGURA 4

axa x - FL1-H  
axa y - Valori

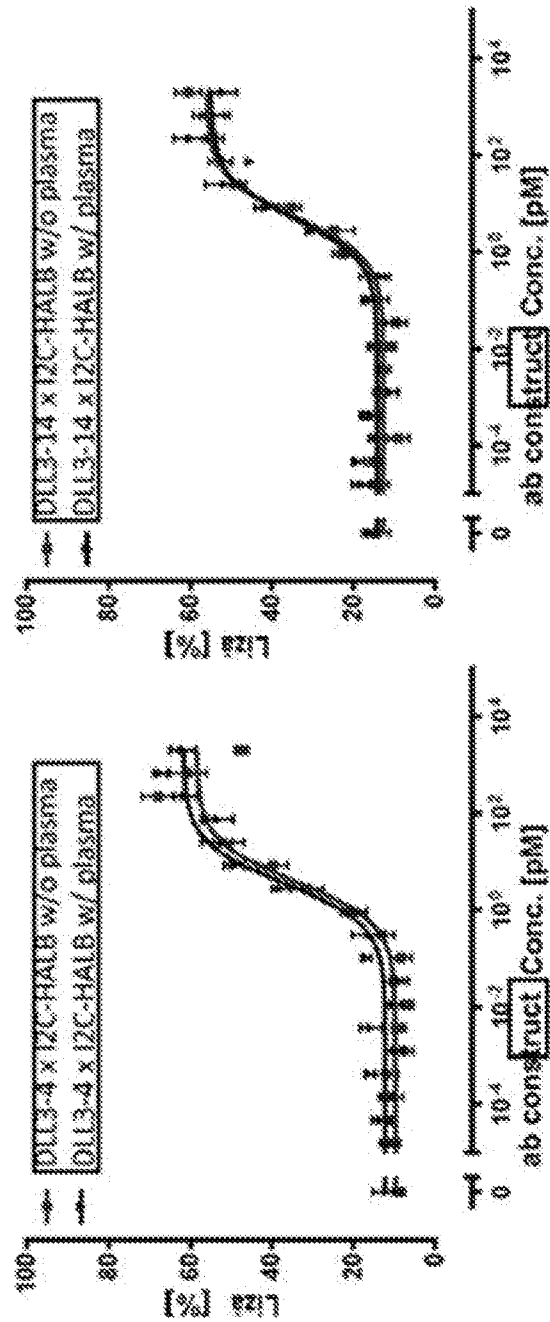


FIGURA 5

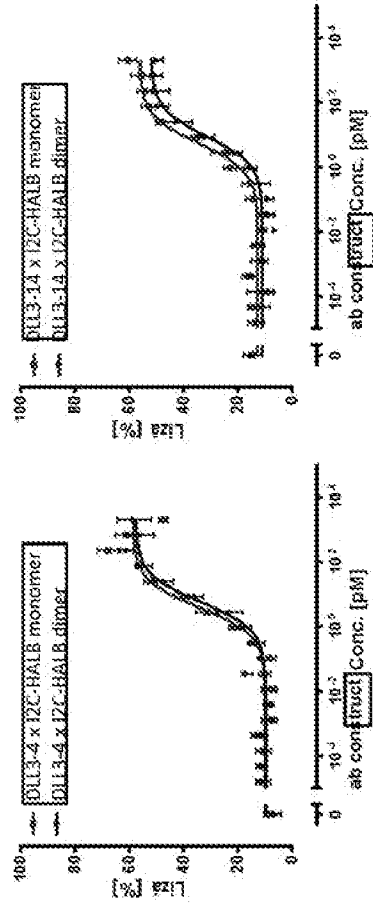


FIGURA 6

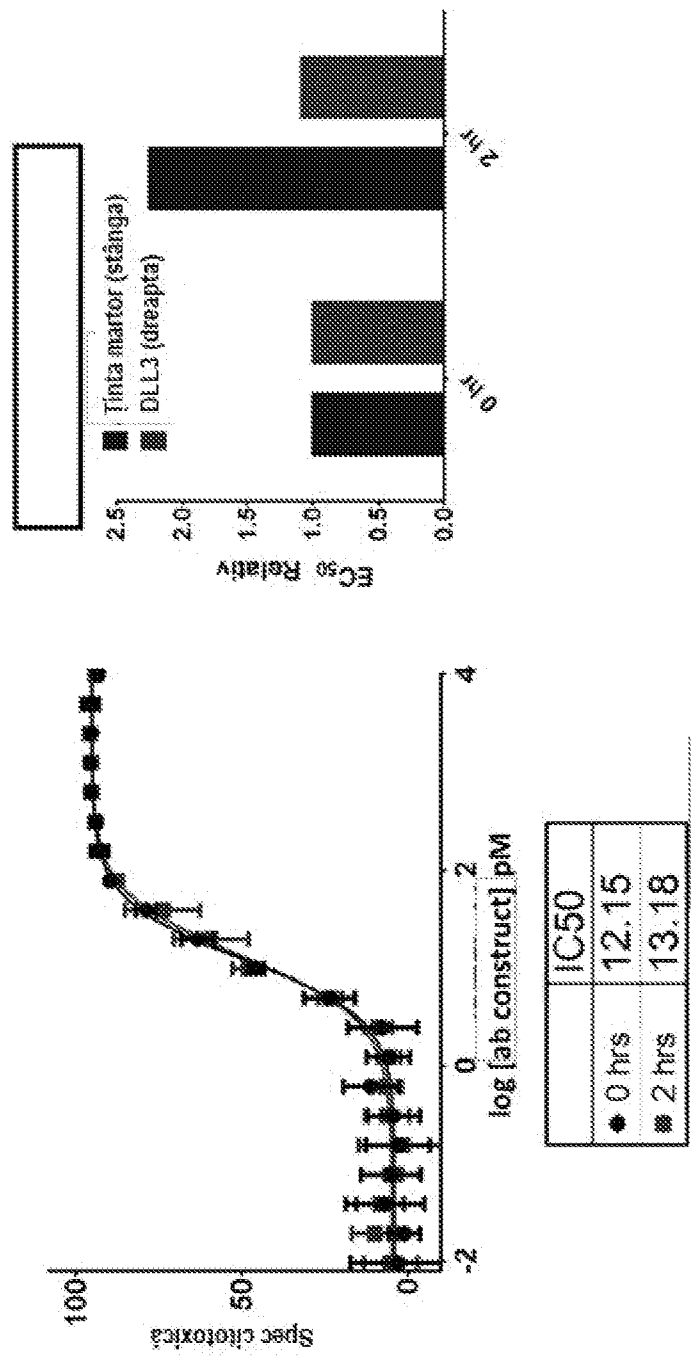
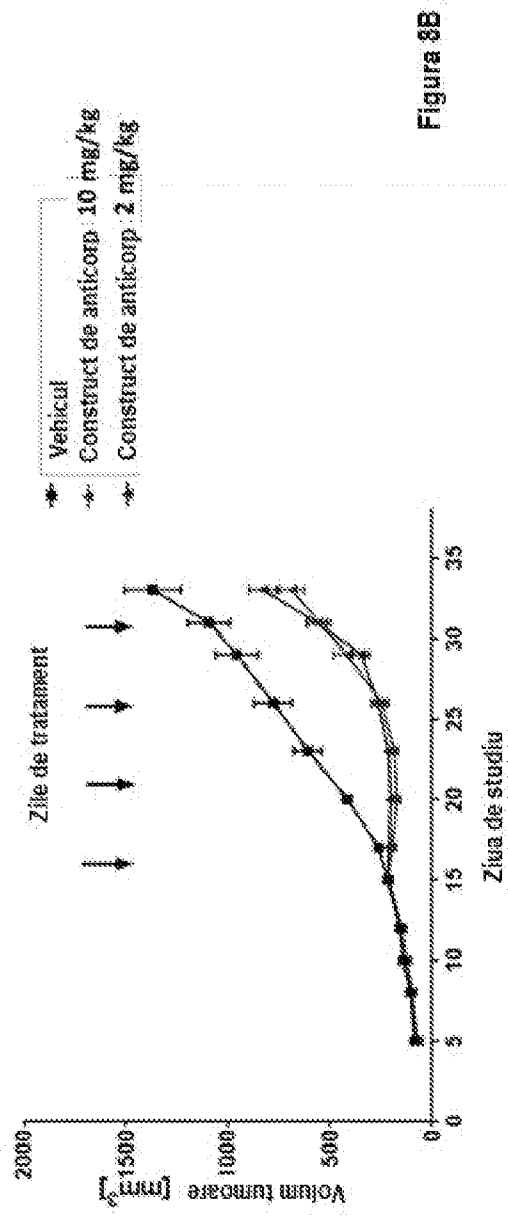
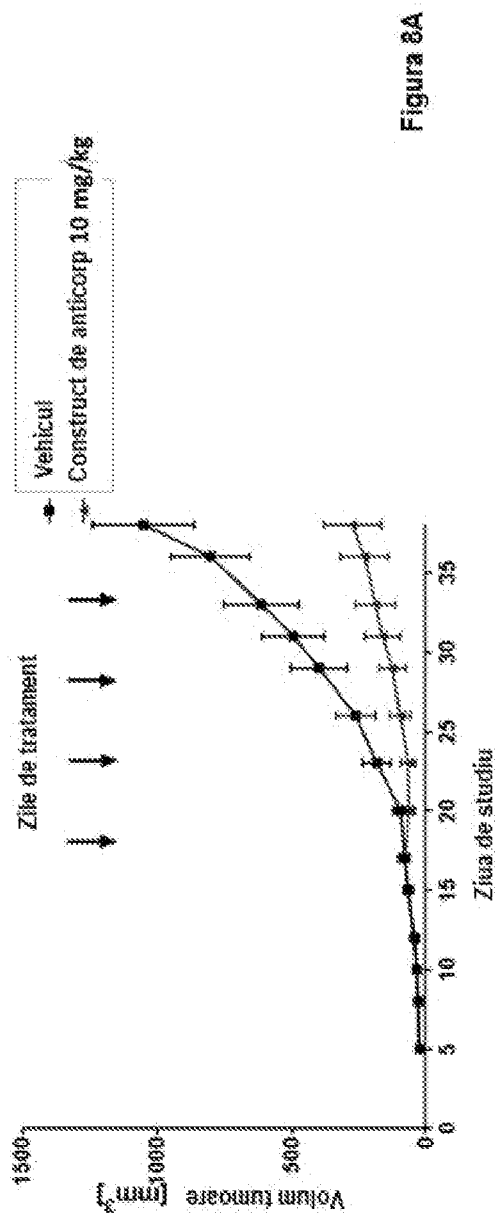


FIGURA 7



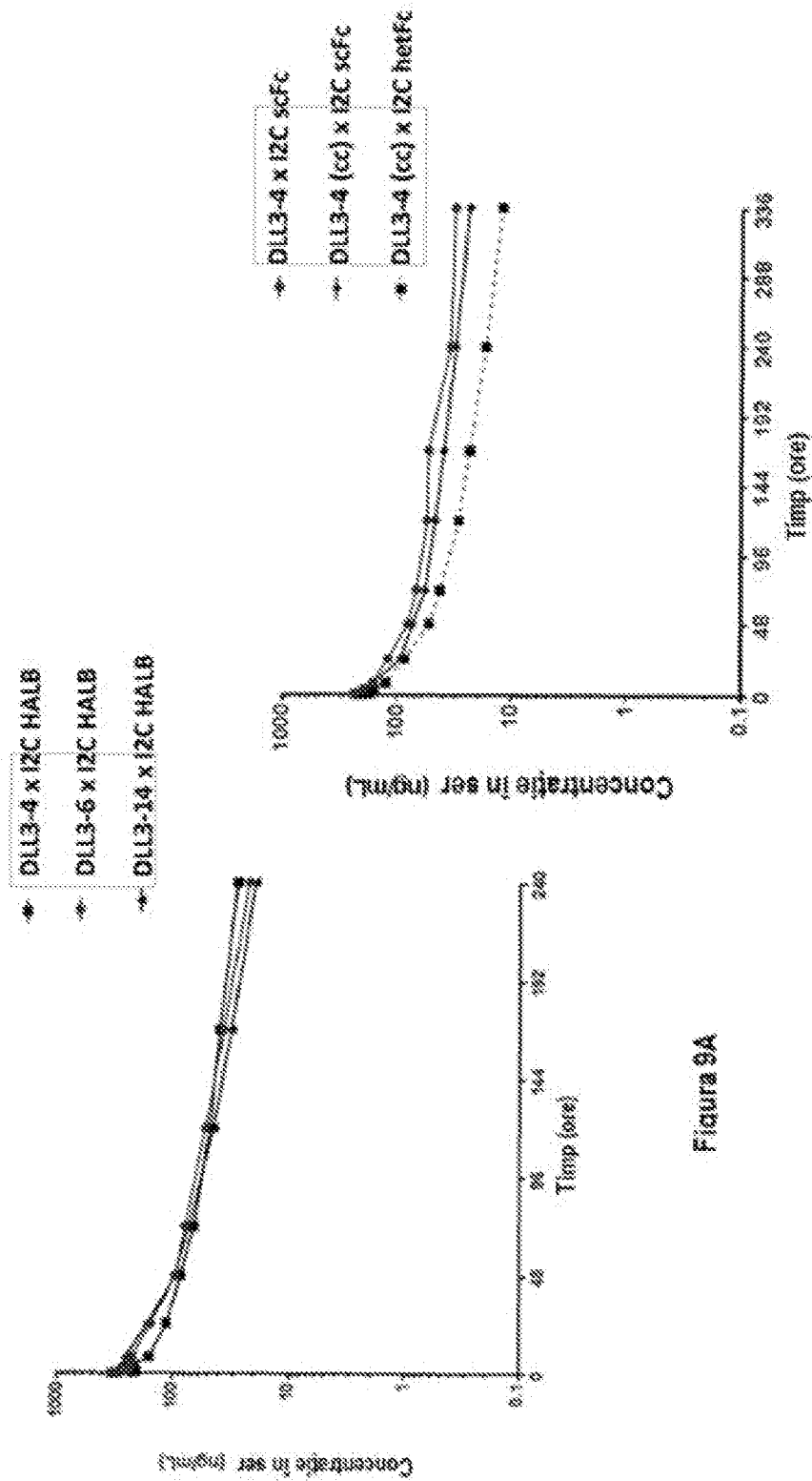


Figure 9B

Figure 9A