

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 956 413**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/06 (2006.01)

C07K 16/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.02.2020** **PCT/US2020/018350**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2020** **WO20168231**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2020** **E 20712121 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2023** **EP 3806895**

54 Título: **Anticuerpos que se unen al tejido tumoral y sus usos para diagnóstico y terapia**

30 Prioridad:

15.02.2019 US 201962806285 P

15.02.2019 US 201962806310 P

03.05.2019 US 201962843298 P

06.05.2019 US 201962843751 P

24.05.2019 US 201962852830 P

29.10.2019 US 201962927501 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.12.2023

73 Titular/es:

ATRECA, INC. (100.0%)
835 Industrial Road Suite 400
San Carlos, CA 94070, US

72 Inventor/es:

DEFALCO, JEFF;
EMERLING, DANIEL ERIC;
FINN, JESSICA;
GREENBERG, NORMAN MICHAEL;
HUANG, VERA;
LIPPOW, SHAUN M.;
LIU, FENGLING;
MANNING-BOG, AMY;
ROBINSON, WILLIAM H.;
SCHOLZ, ALEXANDER;
SERAFINI, TITO;
TAN, YANN CHONG;
VAD, NIKHIL y
VOLKMUTH, WAYNE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 956 413 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos que se unen al tejido tumoral y sus usos para diagnóstico y terapia

Campo de los agentes terapéuticos del cáncer

5 Los anticuerpos terapéuticos para el tratamiento de varios tipos de cáncer han tenido un impacto dramático en la remisión y supervivencia de los pacientes.

De Falco *et al.*, *Clin. Immunol.* 187:37-45, 2018 describen que los pacientes con melanoma metastásico, pero no progresivo, adenocarcinoma de pulmón o carcinoma de células renales exhibieron niveles elevados de plasmablastos sanguíneos. Los autores usaron una tecnología de código de barras celular para secuenciar sus repertorios de anticuerpos de plasmablastos, revelando familias clonales de células B maduras por afinidad que exhiben un cambio de clase progresivo y persistencia en el tiempo. Los hallazgos demuestran respuestas de anticuerpos antitumorales funcionales convergentes dirigidas a antígenos tumorales públicos y proporcionan un enfoque para identificar anticuerpos con utilidad diagnóstica o terapéutica. Baia *et al* Cancer Res. Col 78, No. 13 Suplemento: 3966, julio de 2018 también describen la identificación de anticuerpos antitumorales funcionales de pacientes que reciben inhibidores de puntos de control.

15 Sin embargo, continúa existiendo la necesidad de terapias oncológicas alternativas, p. ej., para tratar pacientes que no responden bien a una terapia y/o se vuelven resistentes a la terapia.

Breve resumen

La invención está definida por las reivindicaciones. En particular, la invención se refiere a un anticuerpo que se une al tejido tumoral como se define en la reivindicación 1.

20 En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une al tejido tumoral, en donde el anticuerpo se une a un complejo extracelular de ARN-proteína y en donde el anticuerpo comprende:

(a) una región variable de cadena pesada que comprende:

(i) una HCDR1 que comprende la SEQ ID NO: 1, o una variante de la misma en donde 1 aminoácido está sustituido con respecto a la secuencia;

25 (ii) una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 9, o una variante de la misma en donde 1 aminoácido está sustituido con respecto a la secuencia; y

(iii) una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 21, o una variante de la misma en donde 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia;

(b) una región variable de cadena ligera que comprende:

30 (i) una LCDR1 que comprende la SEQ ID NO: 48, o una variante de la misma en donde 1 aminoácido está sustituido con respecto a la secuencia;

(ii) una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 59, o una variante de la misma en donde 1 aminoácido está sustituido con respecto a la secuencia; y

35 (iii) una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 68, o una variante de la misma en donde 1 aminoácido está sustituido con respecto a la secuencia. En algunas realizaciones, al menos 1 o 2 de las sustituciones son sustituciones conservativas; al menos el 50 % de las sustituciones son sustituciones conservativas; o todas las sustituciones son sustituciones conservativas.

En algunas realizaciones, la secuencia de HCDR1 comprende una secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la HCDR1 comprende una secuencia de una cualquiera de GFTFSAAWMS (SEQ ID NO: 4), GFVFSKAWMS (SEQ ID NO: 7), GFTFAKAWMS (SEQ ID NO: 6), GFTYSKAWMS (SEQ ID NO: 5), GFTFSMAWMS (SEQ ID NO: 3), o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia RIKSVTDGEQTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 18), RIKSVQDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 12), RIKSVTDGHTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 13) o RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la HCDR3 comprende una secuencia

TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGYKSYYYMDV (SEQ ID NO:33),

TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:21), o

TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSFYYMDV (SEQ ID NO:28).

En algunas realizaciones, la HCDR3 comprende una secuencia:

TSSFCCRGGSCPSSDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:32),
 ISSFCCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:30),
 TSSFCCRSGSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:20),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQDSRYYYMDV (SEQ ID NO:42),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:41),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:37),
 TTSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:39),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO:34), o
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYNRYYYMDV (SEQ ID NO:36).

- 5 En algunas realizaciones, en la secuencia de LCDR1, la posición 3 es S; la posición 4 es S; la posición 5 es S; la posición 6 es N; la posición 11 es S; y/o la posición 13 es S. En algunas realizaciones, la LCDR1 comprende una secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). En algunas realizaciones, la LCDR1 comprende la secuencia SGSSSNIGSSSVY (SEQ ID NO: 56), SGSSTNIGSSSVS (SEQ ID NO: 54), SGASSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 52) o SGSKSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 51). En algunas realizaciones, la secuencia de LCDR2 comprende una secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). En algunas realizaciones, la LCDR2 comprende una secuencia KNNQRPY (SEQ ID NO: 66), KDNQRPS (SEQ ID NO: 62) o KNTQRPS (SEQ ID NO: 65). En algunas realizaciones, la secuencia de LCDR3
 10 comprende una secuencia STWDDALSVRV (SEQ ID NO: 72) o STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73).

En algunas realizaciones, la HCDR1 tiene una secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), GFTFSAWMS (SEQ ID NO: 4) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8); la HCDR2 tiene una secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); la HCDR3 tiene una secuencia

TSSFCCRGGSCPSSDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:32),
 TSSFCCRSGSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:20),
 ISSFCCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:30),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:21), o
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO:34);

- 15 la LCDR1 tiene una secuencia SGSSSNIGSSSVY (SEQ ID NO: 56), SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), SGSSTNIGSSSVS (SEQ ID NO: 54) o SGSKSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 51); la LCDR2 tiene una secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59) o KDNQRPS (SEQ ID NO: 62); y

la LCDR3 tiene una secuencia STWDDALSVRV (SEQ ID NO: 72), o STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68),

- 20 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene las CDR mencionadas y la región variable de cadena pesada tiene una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
 DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSH

DTSYCGGQYKSYYYMDVWGKTTTVTVSS (SEQ ID NO: 94), combinado con la región variable de cadena ligera que tiene una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:140).

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende: una región variable de cadena pesada que comprende una FR1 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR1 correspondiente de una región VH de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725, una FR2 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR2 correspondiente de una región VH de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725, una FR3 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR3 correspondiente de una región VH de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725; y/o una FR4 que comprende una sustitución en 1 o 2 posiciones con respecto a la secuencia de FR4 correspondiente de una región VH de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725; y una región variable de cadena ligera que comprende una FR1 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR1 correspondiente de una región VL de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726, una FR2 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR2 correspondiente de una región VL de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726, una FR3 que comprende una sustitución en 1, 2 o 3 posiciones con respecto a la secuencia de FR3 correspondiente de una región VL de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726; y/o una FR4 que comprende una sustitución en 1 o 2 posiciones con respecto a la secuencia de FR4 correspondiente de una región VL de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de región constante de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1721 y una secuencia de región constante de cadena ligera de la SEQ ID NO: 1722.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una HCDR1 que comprende una secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), una HCDR2 que comprende una secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9), una HCDR3 que comprende una secuencia TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21), una LCDR1 que comprende una secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), una LCDR2 que comprende una secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59) y una LCDR3 que comprende una secuencia STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, la V_H comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGKRTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCRGGSCPSH
DTSYCGGQKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 94); y la V_L comprende una secuencia amino que tiene una identidad del 95 % con

QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 140). En algunas realizaciones, la V_H comprende una secuencia

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGKRTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCRGGSCPSH
DTSYCGGQKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 94); y la V_L comprende una secuencia

QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 140). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de región constante de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1721 y una secuencia de región constante de cadena ligera de la SEQ ID NO: 1722. En algunas realizaciones, la cadena pesada comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 1723 y la cadena ligera comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 1724.

En un aspecto adicional, uno cualquiera de los anticuerpos descritos en los párrafos anteriores de esta sección se proporciona para su uso en terapia mediante la inducción de una respuesta inmune, que puede comprender una respuesta ADCC. En algunas realizaciones, el anticuerpo es para administración intravenosa.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo de la invención para su uso en el método de tratamiento de un paciente con cáncer que tiene un tumor que comprende un complejo extracelular de ARN-proteína, comprendiendo el método administrar uno cualquiera de los anticuerpos descritos en los párrafos anteriores al paciente. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de riñón, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de útero, cáncer de hígado, cáncer de vejiga o cáncer testicular. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama triple negativo, cáncer colorrectal, cáncer de ovario o melanoma. En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el método comprende además administrar quimioterapia y/o radioterapia. En algunas realizaciones, el método comprende además administrar un agente que se dirige a un antígeno de punto de control inmunológico. En algunas realizaciones, el agente es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo monoclonal bloquea la unión del ligando de PD-1 a

PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo anti-PD-1.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un método para identificar a un paciente que tiene un tumor que comprende un complejo extracelular de ARN-proteína, comprendiendo el método poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo como se describe en los párrafos anteriores.

- 5 En otro aspecto, en la presente memoria se proporciona un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica la región V_H de un anticuerpo como se muestra en los párrafos anteriores. Además, en la presente memoria se proporciona un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica la región V_L de un anticuerpo como se muestra en los párrafos anteriores. En algunas realizaciones, un vector de expresión comprende un polinucleótido que codifica la región V_H y la región V_L del anticuerpo. En algunas realizaciones, un vector de expresión proporcionado en la presente memoria comprende un polinucleótido que codifica una CDR3 de V_H o V_L de un anticuerpo mostrado en uno cualquiera de los párrafos anteriores. En la presente memoria también se proporcionan células huésped que comprenden un vector de expresión como se describe en este párrafo. En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula CHO, tal como una célula CHO K-1.

- 15 Además, en la presente memoria se proporciona un método para producir un anticuerpo, comprendiendo el método cultivar una célula huésped como se describe en el párrafo anterior en condiciones en donde se expresan el polinucleótido que codifica la cadena pesada y el polinucleótido que codifica la cadena ligera. En algunas realizaciones, el método comprende además purificar el anticuerpo.

- 20 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un método para identificar un anticuerpo que tiene actividad antitumoral, comprendiendo el método mutagenizar un polinucleótido que codifica una CDR3 de V_H o V_L de uno cualquiera de los anticuerpos descritos en los párrafos anteriores, expresar un anticuerpo que comprende la CDR3 de V_H o V_L mutagenizada y seleccionar un anticuerpo que inhibe el crecimiento tumoral o disminuye el tamaño tumoral, la invasión tumoral y/o la metástasis *in vivo*.

Breve descripción de los dibujos

- 25 La FIG. 1 muestra los datos de crecimiento tumoral de un cribado de un conjunto de anticuerpos (4 anticuerpos, cada uno obtenido de un paciente con cáncer de pulmón) y el anticuerpo líder identificado en el cribado en combinación con un anticuerpo anti-PD-1. Panel A, control PBS; Panel B, solo anticuerpo anti-PD1; Panel C, anti-PD1 más conjunto de anticuerpos; Panel E, combinación de anticuerpo anti-PD1 y AIP-192482 (anticuerpo líder).

Las FIG. 2A y 2B proporcionan datos que muestran los efectos de la administración del anticuerpo líder y variantes sobre el crecimiento tumoral en el modelo de tumor de ratón EMT6.

- 30 Las FIG. 3A y 3B proporcionan datos que muestran los efectos de la administración del anticuerpo líder inicial y variantes sobre la supervivencia en el modelo de tumor de ratón EMT6.

Las FIG. 4A y 4B proporcionan datos normalizados de área por encima de la curva (NAAC) del volumen tumoral para el anticuerpo líder y variantes en el modelo de tumor de ratón EMT6.

- 35 Las FIG. 5A-5D proporcionan datos que muestran los efectos de la administración del anticuerpo líder y variantes sobre el crecimiento tumoral en el modelo de tumor de ratón EMT6.

Las FIG. 6A y 6B muestran datos de supervivencia en el modelo de tumor EMT6 que compara el anticuerpo líder y las variantes con el control.

Las FIG. 7A-7B proporcionan datos de NAAC obtenidos para el anticuerpo líder inicial y las variantes, ensayados en el modelo de tumor de ratón EMT6.

- 40 La FIG. 8 resume el diseño de un estudio para ensayar variantes individuales como monoterapias y en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 en el modelo de tumor de ratón EMT-6.

La FIG. 9 muestra los datos de supervivencia en monoterapia para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el estudio resumido en la FIG. 8.

- 45 La FIG. 10 proporciona datos de crecimiento tumoral en monoterapia para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el estudio resumido en la FIG. 8.

La FIG. 11 proporciona datos de probabilidad de supervivencia en monoterapia para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el estudio resumido en la FIG. 8.

La FIG. 12 proporciona datos de volumen tumoral en monoterapia para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el estudio resumido en la FIG. 8.

- 50 La FIG. 13 proporciona datos de crecimiento tumoral en terapia de combinación para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en combinación con un anticuerpo anti-PD1 en el estudio resumido en la FIG. 8.

La FIG. 14 proporciona datos de probabilidad de supervivencia en terapia de combinación para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en combinación con un anticuerpo anti-PD1 en el estudio resumido en la FIG. 8.

La FIG. 15 proporciona datos de volumen tumoral en terapia de combinación para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en combinación con un anticuerpo anti-PD1 en el estudio resumido en la FIG. 8.

5 La FIG. 16 proporciona datos de crecimiento tumoral para el anticuerpo líder inicial y dos variantes en el modelo de ratón CT26.

La FIG. 17 proporciona datos de probabilidad de supervivencia para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el modelo de ratón CT26.

10 La FIG. 18 proporciona datos de volumen tumoral para el anticuerpo líder inicial y dos variantes, ensayados en el modelo de ratón CT26.

La FIG. 19 proporciona datos de unión inmunohistoquímica que muestran la unión de anticuerpos variantes AIP-157397 y AIP-165430 al tumor y al tejido adyacente al tumor (TAT).

La FIG. 20 proporciona datos de unión inmunohistoquímica que muestran la unión de la variante AIP-106042 al tejido tumoral.

15 La FIG. 21 proporciona datos de unión inmunohistoquímica que muestran la unión de la variante AIP-100196 al tejido tumoral.

La FIG. 22 proporciona datos de unión inmunohistoquímica que muestran la unión del candidato líder y variantes, incluidos los anticuerpos AIP-192482, AIP-160470, AIP-133645, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-187893, AIP-142079, AIP-184490 y AIP-104188, a tejido tumoral de mama positivo para el receptor de estrógeno y TAT.

20 Las FIG. 23A-23C proporcionan datos inmunohistoquímicos que muestran la unión del anticuerpo líder inicial (FIG. 23A), variante AIP-133645 (FIG. 23B) y variante AIP-160470 (FIG. 23C) a tejido de tumores que surgen de células A549 de pulmón humano, células BXPC3 de páncreas humano, células Colo-205 de cáncer de colon humano o células PC3 de cáncer de próstata humano; y tumor que surge de líneas celulares de cáncer de colon, mama, pulmón o riñón de ratón.

La FIG. 24 proporciona datos inmunohistoquímicos que muestran la infiltración de células inmunes en tumores después del tratamiento con un anticuerpo anti-PD-1, el anticuerpo líder inicial o la combinación de los dos anticuerpos.

La FIG. 25 proporciona un esquema de un ensayo de unión *ex vivo* para determinar la correlación con la actividad antitumoral *in vivo*.

30 La FIG. 26 proporciona datos que muestran la unión de variantes a células de EMT6 *ex vivo* en correlación con datos *in vivo*.

La FIG. 27 proporciona datos que muestran que la unión de variantes a células de EMT6 *ex vivo* se correlacionan con el resultado *in vivo*. C = un anticuerpo anti-EGFR de control

La FIG. 28 proporciona los resultados de un análisis por SDS-PAGE de proteína inmunoprecipitada con AIP-192482.

35 La FIG. 29 proporciona los resultados de un análisis de inmunoprecipitados del complejo AIP-192482-diana tratados con ARNasa o ADNasa.

La FIG. 30 muestra los resultados de un análisis por SDS PAGE de inmunoprecipitación usando lisado de células A549 no marcadas incubadas con perlas M-280 conjugadas con AIP-192482 y luego reticuladas.

40 La FIG. 31 muestra la purificación por filtración en gel del complejo AIP-192482-antígeno con y sin tratamiento con ARNasa y análisis por SDS PAGE de las fracciones de la columna.

45 Las FIG. 32A-D muestran resultados de experimentos de imagenología de inmunofluorescencia que muestran una superposición extensa entre la señal de AIP-192482 y la señal de G3BP, un marcador de gránulos de estrés. Los resultados también muestran que, aunque un subconjunto de estas estructuras positivas para G3BP, es decir, puntos muy pequeños, no son positivos para la inmunorreactividad de AIP-192482, en agregados más grandes, que tienen una estructura más heterogénea, la reactividad se localiza conjuntamente.

50 Las FIG. 33A-D muestran los resultados de un experimento de imagenología confocal realizado en un tejido tumoral de EMT6. Un objeto esférico (indicado por el rectángulo punteado) de aproximadamente 4 μ m de diámetro se resaltó con tinción fluorescente, lo que indica que reaccionó en su superficie con AIP-160470 y tiene reactividad CD9 en su luz. CD9 es una tetraspanina, que se ha informado que es un marcador de vesículas extracelulares. Las FIG. 33B-D son imágenes de mayor aumento de ciertas áreas dentro de la imagen de la FIG. 33A, tomadas en cada caso de un

plano de una reconstrucción tridimensional. Los resultados de la reconstrucción tridimensional de imagenología confocal muestran que la reactividad de AIP-160470 es claramente de naturaleza extracelular, lo que respalda las conclusiones de los datos de citometría de flujo que se muestran en la FIG. 35.

5 La FIG. 34 muestra los resultados de experimentos de imagenología confocal realizados en un tejido de carcinoma de mama humano. Las imágenes muestran una masa de vesículas positivas para CD9 de aproximadamente 1 µm de diámetro incrustadas en la señal de AIP-160470 (indicada por flechas blancas). Las FIG. 34B-D son imágenes de mayor aumento de ciertas áreas dentro de la imagen de la FIG. 34A, tomadas en cada caso de un plano de una reconstrucción tridimensional. Los resultados de la reconstrucción tridimensional de imagenología confocal muestran que la masa de vesículas positivas para CD9 es externa a las células cercanas.

10 Las FIG. 35A y 35B muestran el análisis por citometría de flujo de células EMT6 teñidas con AIP-192482 y AIP-160470 después de ser tratadas con el agente quimioterapéutico doxorrubicina ("DOX") durante 16 horas *in vitro*. La fluorescencia media geométrica correspondiente a la unión de anticuerpos a las células EMT6 detectadas por citometría de flujo se representó frente a las concentraciones de DOX usadas para tratar las células EMT6. Los resultados muestran que la DOX indujo reactividad superficial a lo largo del tiempo para AIP-192482 y AIP-160470 en células EMT6. Estos datos complementan los datos de la FIG. 33 que muestran que el crecimiento de las células EMT6 *in vivo* también induce dicha reactividad superficial.

La FIG. 36 muestra la reactividad superficial inducida tanto por doxorrubicina ("DOX") como por cisplatino ("CDDP") en células EMT6.

FIG. 37A y 37B. Numeración de Kabat, Chothia e IMGT de AIP-160470.

20 FIG. 38A y 38B. Las FIG. 38A y 38B proporcionan datos que muestran que el ARN es inmunoprecipitado preferentemente por AIP-192482. Se realizó inmunoprecipitación a partir de lisados A549 y el ARN unido se extrajo con Trizol y luego se purificó usando un kit Zymo Quick-RNA Miniprep. Después de la purificación, el ARN se cuantificó a través de Qubit y se analizó en un Bioanalizador 2100 de Agilent con el picoensayo RNA 6000. A continuación, se procesó el ARN para la secuenciación con el Kit de Preparación de Bibliotecas de ARN NEBNext Ultra II para Illumina y se secuenció en un Illumina MiSeq con un kit de secuenciación V3 de 600 ciclos (2x300 PE). Las lecturas se filtraron por calidad usando AfterQC, luego se alinearon con el genoma humano hg19 usando TopHat y las lecturas mapeadas se cuantificaron usando featureCounts.

La FIG. 39 muestra la actividad variante en un ensayo de unión a FcR *in vitro*.

La FIG. 40 enumera variantes seleccionadas para la Ronda 1 del estudio *in vivo*.

30 La FIG. 41 enumera variantes seleccionadas para la Ronda 2 del estudio *in vivo*.

La FIG. 42 muestra el diseño del estudio para la actividad *in vivo*.

La FIG. 43 proporciona datos que muestran el volumen tumoral en las cohortes en la aleatorización en la Ronda 2.

La FIG. 44 muestra los efectos antitumorales de las variantes en la Ronda 2, clasificadas por supervivencia mediana.

35 La FIG. 45 muestra los anticuerpos que exhibieron las respuestas más eficaces en la Ronda 2, clasificados por el tamaño del efecto NAAC.

La FIG. 46 muestra los anticuerpos que exhibieron las respuestas más eficaces en la Ronda 2, clasificados por el tamaño del efecto NGRM.

La FIG. 47 muestra los anticuerpos que incitaron las respuestas más completas en la Ronda 2.

La FIG. 48 muestra los anticuerpos que exhibieron las respuestas más duraderas en la Ronda 2

40 La FIG. 49 proporciona un resumen de la actividad *in vivo* de un subconjunto de anticuerpos variantes que tienen efectos antitumorales se proporciona en la FIG. 49.

Las FIG. 50A y 50 B muestra la relación entre los resultados del ensayo del receptor Fc-gamma *in vitro* y la actividad *in vivo*.

45 La FIG. 51 muestra un esquema de las variantes de secuencia de ATRC-101 generadas durante el descubrimiento y para la evaluación farmacológica de ATRC-101. Los números son números AIP que indican las variantes de Fv: 192482=AIP-192482, 133645=AIP-133645, 160470=AIP-160470. Fc = fragmento cristizable; Fv = fragmento variable; hIgG1 = inmunoglobulina G humana, subclase 1; IRC™ = Captura de repertorio inmune®; mIgG1 = inmunoglobulina G de ratón, subclase 1; mIgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a, mIgG3 = inmunoglobulina G de ratón, subclase 3; N297A = modificación de asparagina a alanina en la posición 297. ATRC-101 es una inmunoglobulina G completamente humana, subclase 1 (IgG1)/anticuerpo lambda que comprende las regiones V_H y V_L de AIP-160470.

La FIG. 52 muestra los resultados del análisis de expresión de la unión de ATRC-101 en cáncer colorrectal, cáncer de mama triple negativo y melanoma mediante inmunofluorescencia. La unión del anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a al tumor incluido en parafina fijado con formalina y al tejido adyacente al tumor de CRC, TNBC y melanoma. La unión se evaluó usando 10 µg/mL de AIP-160470 mlgG2a conjugado con Alexa Fluor 647 mediante metodología de inmunofluorescencia estándar y se comparó con el anticuerpo monoclonal de control de isotipo mlgG2a conjugado con Alexa Fluor 647. Los tejidos se contratiñeron con Hoechst. Las señales detectadas por AIP-160470-mlgG2a o isotipo se muestran en rojo/magenta y los núcleos están marcados en azul. Se muestra la tinción con H y E de una sección adyacente. La línea roja en la tinción H y E indica 50 µm. Adeno = adenocarcinoma; CRC= cáncer colorrectal; H y E = hematoxilina y eosina; µg = microgramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; TNBC = cáncer de mama triple negativo

La FIG. 53 muestra el efecto del pretratamiento con nucleasa sobre la unión del anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a a tejidos de carcinoma de mama ER+ humano. Las secciones de tejido fresco congelado se pretrataron con las concentraciones indicadas de ARNasa A, ARNasa H o ADNasa I. Las secciones se lavaron, se fijaron en paraformaldehído y se bloquearon antes de teñirlas con 20 µg/mL de AIP-160470-mlgG2a conjugado con Alexa Fluor 647 y anticuerpos anti-cadherina E o mlgG2a conjugado con Alexa Fluor 647 y control de isotipo IgG de conejo. Los portaobjetos se incubaron con anticuerpo anti-conejo secundario conjugado con Alexa Fluor 488. Las secciones se lavaron y se contratiñeron con Hoechst. AIP-160470-mlgG2a se muestra en rojo/magenta, la E-cadherina se muestra en verde y el amarillo indica la colocalización de AIP-160470-mlgG2a y E-cadherina. Los núcleos están marcados en azul. Las imágenes se capturaron usando un escáner de portaobjetos automatizado Axio Scan (Zeiss). Se muestra la tinción con H y E de una sección adyacente. La línea blanca en el recuadro negro indica 50 µm. ADNasa = desoxirribonucleasa; E-Cad = E-cadherina; ER+ = positivo para receptor de estrógeno; H y E = hematoxilina y eosina; µg = microgramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mL = mililitro; NSCLC = cáncer de pulmón de células no pequeñas; ARNasa = ribonucleasa; U = unidad(es).

Las FIG. 54A y 54B muestran la distribución de inmunorreactividad del anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a y PABPC-1 humano en tejidos normales y carcinoma humano por inmunofluorescencia. Las imágenes muestran la distribución de inmunorreactividad del anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a en adenocarcinoma de intestino delgado humano (FIG. 39A) y tejidos normales representativos de cerebro, cerebelo, corazón, pulmón, hígado, riñón, páncreas, estómago y bazo de un estudio de dos TMA FFPE (FDA808J-1 y FDA808J-2; FIG. 39B). Las secciones se tiñeron usando 1,25 µg/mL de anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a conjugado con Alexa Fluor 647. Las secciones adyacentes se incubaron con un anticuerpo PABPC-1 policlonal de conejo detectado con un anticuerpo secundario anti-conejo conjugado con Alexa Fluor 647 o tinción H y E. FFPE = fijado en formalina e incluido en parafina; H y E = hematoxilina y eosina; µg = microgramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mL = mililitro; PABPC-1 = proteína de unión a poliadenilato citoplasmático 1; RablgG = inmunoglobulina G de conejo; TMA = micromatriz de tejido.

Las FIG. 55A y 55B muestran la inhibición del crecimiento tumoral dependiente de la dosis por ATRC-101 y el anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c. Se inocularon en los ratones BALB/c 1×10^6 células tumorales EMT6 y se dosificaron IP dos veces por semana con las dosis indicadas del anticuerpo quimérico MFC-042 (AIP-160470-mlgG2a; FIG. 41A) o el ATRC-101 (FIG. 41 B), cuando el MTV del grupo alcanzó 112 a 113 mm³ y 108 mm³, respectivamente. Se muestran la media y el error estándar de la media para cada grupo de tratamiento (15 animales/grupo). IP = por vía intraperitoneal; kg = kilogramo; mg = miligramo; MTV = volumen tumoral medio.

La FIG. 56 muestra el impacto de la función efectora de Fc sobre la eficacia antitumoral de variantes quiméricas del anticuerpo parental AIP-192482 en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c. Se inocularon en los ratones BALB/c 1×10^6 células tumorales EMT6 y se aleatorizaron en grupos de tratamiento 6 días después. A partir de los 7 días posteriores a la inoculación de EMT6, con un volumen tumoral medio promedio grupal de 94,5 mm³, los ratones se dosificaron IP dos veces por semana con 10 mg/kg de las variantes quiméricas AIP-192482-mlgG2a, AIP-192482-mlgG1, AIP-192482-mlgG3 o AIP-192482-mlgG2a-N297A del anticuerpo parental AIP-192482 o vehículo (solución salina tamponada con fosfato). Se muestran los volúmenes tumorales de animales individuales de cada grupo de tratamiento (20 animales por grupo). Para los grupos de tratamiento con CR, se muestra la relación de ratones con CR respecto al total de animales por grupo. CR = regresión tumoral completa; IP = (por vía) intraperitoneal; kg = kilogramo; mg = miligramo; mlgG1 = inmunoglobulina G de ratón, subclase 1; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mlgG3 = inmunoglobulina G de ratón, subclase 3; N297A = modificación de asparagina a alanina en la posición 297; mm = milímetro.

La FIG. 57 muestra la eficacia antitumoral del anticuerpo parental quimérico AIP-192482 y las variantes de secuencia optimizada en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALBc, estudio EFF-016. En el estudio EFF-016, se inocularon a ratones BALB/c 1×10^6 células tumorales EMT6 y se aleatorizaron en grupos de tratamiento (20 animales por grupo) 6 días después. A partir de los 7 días posteriores a la inoculación de EMT6 (volumen tumoral promedio del grupo de 156 mm³), los ratones se dosificaron IP dos veces por semana con las dosis indicadas de anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a, variante de secuencia optimizada quimérica AIP-133645-mlgG2a, anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a o vehículo (DPBS). Se muestran los volúmenes tumorales de ratones individuales en cada grupo de tratamiento hasta el Día 53. DPBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; IP = por vía intraperitoneal; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mm = milímetro.

Las FIG. 58A y 58B muestran la eficacia antitumoral del anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a y variantes de secuencia optimizada en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALBc, estudio EFF-020. En el estudio EFF-020, se inocularon a ratones BALB/c 1×10^6 células tumorales EMT6 y se aleatorizaron en grupos de tratamiento (20 animales por grupo) 6 días después, cuando el volumen tumoral promedio del grupo era de aproximadamente 10^4 mm³. Los ratones se dosificaron IP dos veces por semana con 5 mg/kg o 10 mg/kg de anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a, 2,5 mg/kg o 5 mg/kg de anticuerpo quimérico AIP-160470-mlgG2a, o vehículo (DPBS) empezando el Día 7 para un total de 7 dosis. Los ratones también se dosificaron IP con 10 mg/kg de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón o vehículo (DPBS) dos veces por semana a partir del Día 7 para un total de 4 dosis. En los grupos de monoterapia, el vehículo se administró según el programa de dosificación del artículo de ensayo ausente. La FIG. 44A muestra los volúmenes tumorales de ratones individuales en grupos de tratamiento con AIP-192482-mlgG2a y grupos de control hasta el Día 35. La FIG. 44B muestra los volúmenes tumorales de ratones individuales en grupos de tratamiento con AIP-160470-mlgG2a y grupos de control hasta el Día 35. CR = regresión tumoral completa; DPBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; IP = por vía intraperitoneal; kg = kilogramo; mg = miligramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mm = milímetro; PD-1 = receptor de muerte programada 1.

Las FIG. 59A y 59B muestran la eficacia antitumoral del anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALBc, Estudio EFF-039. En el estudio EFF-039, se inocularon a los ratones BALB/c 1×10^6 células tumorales CT26 y se aleatorizaron en grupos de tratamiento 6 días después. Empezando 7 días después de la inoculación de CT26 (volumen tumoral promedio del grupo de aproximadamente 145 mm³), los ratones se dosificaron IP tres veces por semana con 20 mg/kg de anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a (40 animales) o vehículo (DPBS; 20 animales). La FIG. 45A muestra los volúmenes tumorales de ratones individuales en cada grupo de tratamiento hasta el Día 35. La FIG. 45B muestra los volúmenes tumorales para los grupos de tratamiento dosificados con AIP-192482-mlgG2a hasta el Día 97. Se indica el número de CR hasta el Día 97. DPBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; IP = por vía intraperitoneal; kg = kilogramo; mg = miligramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mm = milímetro

La FIG. 60 muestra la eficacia antitumoral del anticuerpo AIP-192482-mlgG2a solo o en combinación con bloqueo de PD-1 en el modelo de tumor de ratón singénico E0771 - C57BL/6, estudio EFF-006. En el estudio EFF-006, se inocularon a los ratones C57BL/6 1×10^6 células tumorales E0771 y se aleatorizaron en grupos de tratamiento de 20 animales por grupo 8 días después, cuando el volumen tumoral promedio del grupo era de aproximadamente 10^4 mm³. Empezando 9 días después de la inoculación de E0771, los ratones se dosificaron IP dos veces por semana hasta el Día 30 con 20 mg/kg de anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a o vehículo (DPBS). Además, los ratones se dosificaron IP dos veces por semana con 2,5 mg/kg de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón o vehículo (DPBS) dos veces por semana empezando el Día 9. En los grupos de monoterapia, el vehículo se administró según el programa de dosificación del artículo de ensayo ausente. Se muestran los volúmenes tumorales de ratones individuales en cada grupo de tratamiento hasta el Día 35. Se indica el número de CR en cada grupo de tratamiento.

CR = regresión tumoral completa; DPBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; IP = por vía intraperitoneal; kg = kilogramo; mg = miligramo; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; mm = milímetro; PD-1 = receptor de muerte programada 1.

La FIG. 61 muestra la evaluación del requisito de células T para la eficacia antitumoral en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALBc, estudio TMD04. En el estudio TMD04, se inocularon a los ratones BALB/c 1×10^6 células EMT6 y se dosificaron IP con DPBS o anticuerpo anti-CD8 α de ratón, clon 2.43 (BioXCell), tres veces por semana empezando el Día 6. El anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a o vehículo (DPBS) se dosificó IP a 10 mg/kg dos veces por semana empezando el Día 7 (10 animales por grupo). Se muestran los volúmenes de los tumores individuales hasta el Día 27. DPBS = solución salina tamponada con fosfato; IP = (por vía) intraperitoneal; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a

Las FIG. 62A y 62B muestran que la evaluación de células T CD8+ y polarización M1 de macrófagos en tumores EMT6 *in vivo* después del tratamiento con el anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a. Se dosificaron los ratones BALB/c con tumores EMT6 establecidos con vehículo (DPBS) o 20 mg/kg del anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mlgG2a los Días 7, 10 y 14 como parte del estudio antitumoral EFF-004. Los tumores EMT6 se recogieron de ratones representativos el Día 15 del estudio. Las muestras se seccionaron y se tiñeron con anticuerpos anti-CD8 o anti-iNOS mediante la metodología de inmunofluorescencia de amplificación de señalización de tiramida. La FIG. 48A muestra secciones de tumor representativas teñidas de animales tratados con DPBS o AIP-192482-mlgG2a para detectar la presencia de células T CD8+ o macrófagos iNOS+ (verde). El recuadro muestra la tinción con H y E de una sección adyacente. Las líneas blancas sobre fondo negro indican 50 μ m. La FIG. 48B muestra la proporción de células CD8+ (5 animales) e iNOS+ (10 animales) después de la administración de DPBS o AIP-192482-mlgG2a. La significancia se evaluó mediante la prueba t no pareada, con * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$. DPBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; H y E = hematoxilina y eosina; iNOS = óxido nítrico sintasa inducible; mlgG2a = inmunoglobulina G de ratón, subclase 2a; PBS = solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco.

La FIG. 63 muestra las concentraciones séricas en monos cynomolgus después de la administración intravenosa de dosis única de ATRC-101 (estudio ATRC-101.PK.18.01). Se proporcionó a monos cynomolgus machos y hembras una inyección intravenosa en bolo de 1 mg/kg, 10 mg/kg o 30 mg/kg de ATRC-101. Se recogieron muestras de sangre 5

minutos y 1, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168, 240, 336, 504 y 672 horas después de la dosis. Se muestran las concentraciones en suero sanguíneo de ATRC-101 medidas por ELISA. ELISA = ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.

La FIG. 64 muestra las concentraciones séricas en monos cynomolgus después de la administración de dosis repetidas de ATRC-101 (estudio ATRC-101.TX.18.01). Se proporcionó a monos cynomolgus machos y hembras una administración vez por semana mediante infusión IV a 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg de ATRC-101 para un total de 4 dosis. Se recogieron muestras de sangre 15 minutos y 1, 4, 8, 12, 24, 48, 96 y 168 horas después de la primera y última dosis y ATRC-101. Se muestran las concentraciones en suero sanguíneo de ATRC-101 medidas por ELISA.

Descripción detallada

La invención se define por las reivindicaciones. En particular, la invención se refiere a un anticuerpo que se une al tejido tumoral como se define en la reivindicación 1. La divulgación técnica que se muestra a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de las reivindicaciones. Los elementos de la divulgación que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones se proporcionan a título informativo.

Terminología

Tal y como se usa en la presente memoria, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contenido dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "un anticuerpo" incluye opcionalmente una combinación de dos o más de dichas moléculas y similares.

El término "aproximadamente" tal y como se usa en la presente memoria se refiere al rango de error habitual para el valor respectivo fácilmente conocido por el experto en este campo técnico, por ejemplo $\pm 20\%$, $\pm 10\%$ o $\pm 5\%$, están dentro del significado previsto del valor citado.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "anticuerpo" significa un agente de unión aislado o recombinante que comprende las secuencias de región variable necesarias para unirse específicamente a un epítipo antigénico. Por lo tanto, un "anticuerpo", tal y como se usa en la presente memoria, es cualquier forma de anticuerpo de cualquier clase o subclase o fragmento del mismo que muestre la actividad biológica deseada, p. ej., unión a un antígeno diana específico. Por lo tanto, se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente un anticuerpo monoclonal (incluidos los anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos humanos, anticuerpos quiméricos, nanocuerpos, diacuerpos, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos que incluyen, pero no se limitan a, a scFv, Fab y similares siempre que muestren la actividad biológica deseada.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, por ejemplo, la región variable o de unión a antígeno del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (p. ej., Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); moléculas de anticuerpo de cadena única (p. ej., scFv); y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. La digestión de anticuerpos con papaína produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, llamados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión a antígeno, y un fragmento "Fc" residual, una designación que refleja la capacidad de cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de combinación de antígenos y aún es capaz de reticular el antígeno.

Un "anticuerpo de unión a tumor", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un anticuerpo que se une al tejido tumoral. En una realización, el anticuerpo de unión a tumor se une al tejido tumoral a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína. "Complejo extracelular de ARN-proteína" se refiere a un complejo que se detecta en el exterior de las células tumorales. No es necesario que el complejo se integre en la superficie externa de las células, pero en algunas realizaciones, puede estar asociado con el exterior de las células tumorales como un conglomerado o agregado de moléculas de ARN y proteínas que interactúan con la membrana celular, o estar presente de otro modo fuera de la célula tumoral. Aunque el complejo extracelular de ARN-proteína es externo a las células tumorales, también puede estar presente internamente en una célula. Un "anticuerpo de unión a tumor" de la presente divulgación muestra una unión preferencial al tejido tumoral en comparación con el tejido adyacente al tumor (TAT), p. ej., se observa una señal específica por encima del ruido con una mayor reactividad aparente en el tumor frente a los tejidos adyacentes. En algunas realizaciones, el anticuerpo de unión a tumor es un "anticuerpo antitumoral" que disminuye la tasa de crecimiento tumoral, el tamaño tumoral, la invasión y/o la metástasis, a través de efectos directos o indirectos sobre las células tumorales.

Tal y como se usa en la presente memoria, "región V" se refiere a un dominio de región variable de anticuerpo que comprende los segmentos de Marco 1, CDR1, Marco 2, CDR2 y Marco 3, incluidos CDR3 y Marco 4. La región V de la cadena pesada, V_H, es una consecuencia del reordenamiento de un gen V (HV), un gen D (HD) y un gen J (HJ), en lo que se denomina recombinación V(D)J durante la diferenciación de las células B. La región V de la cadena ligera, V_L, es una consecuencia del reordenamiento de un gen V (LV) y un gen J (LJ).

Tal y como se usa en la presente memoria, "región determinante de la complementariedad (CDR)" se refiere a las tres regiones hipervariables (HVR) en cada cadena que interrumpen las cuatro regiones "marco" establecidas por las regiones variables de cadena ligera y pesada. Las CDR son los principales contribuyentes a la unión a un epítipo de un antígeno. Las CDR de cada cadena se denominan CDR1, CDR2 y CDR3, numeradas secuencialmente a partir del

extremo N, y también se identifican por la cadena en donde está localizada la CDR particular. Así, por ejemplo, una CDR3 de V_H (HCDR3) está localizada en el dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo en donde se encuentra, mientras que una CDR3 de V_L (LCDR3) es la CDR3 del dominio variable de la cadena ligera del anticuerpo en donde se encuentra. El término "CDR" se usa indistintamente con "HVR" en esta solicitud cuando se hace referencia a secuencias de CDR.

Las secuencias de aminoácidos de las CDR y las regiones marco se pueden determinar usando varias definiciones bien conocidas en la técnica, p. ej., Kabat, Chothia, la base de datos internacional ImMunoGeneTics (IMGT) y AbM (véase, p. ej., Chothia y Lesk, 1987, Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. *J. Mol. Biol.* 196, 901-917; Chothia C. et al, 1989, Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature* 342, 877-883; Chothia C. et al, 1992, structural repertoire of the human VH segments *J. Mol. Biol.* 227, 799-817; Al-Lazikani et al, *J. Mol. Biol.* 1997, 273(4)). Las definiciones de los sitios de combinación de antígenos también se describen en los siguientes: Ruiz et al, IMGT, the international ImMunoGeneTics database. *Nucleic Acids Res.*, 28, 219-221 (2000); y Lefranc, M.-P. IMGT, the international ImMunoGeneTics database. *Nucleic Acids Res.* 1 de ene; 29(1):207-9 (2001); MacCallum et al, Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography, *J. Mol. Biol.*, 262 (5), 732-745 (1996); y Martin et al, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 86, 9268-9272 (1989); Martin, et al, *Methods Enzymol.* 203, 121-153, (1991); Pedersen et al, *Immunomethods*, 1, 126, (1992); y Rees et al, En Sternberg M.J.E. (ed.), *Protein Structure Prediction*. Oxford University Press, Oxford, 141-172 1996). Las referencias a las CDR determinadas por la numeración de Kabat se basan, por ejemplo, en Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Las CDR de Chothia se determinan como se define por Chothia (véase, p. ej., Chothia y Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)).

Una "región Fc" se refiere a la región constante de un anticuerpo que excluye el dominio de inmunoglobulina de la primera región constante. De este modo, p. ej., para inmunoglobulinas humanas, "Fc" se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgA, IgD e IgG, y los últimos tres dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM, y la bisagra flexible N-terminal de estos dominios. Para de IgA e IgM, Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, Fc comprende los dominios de inmunoglobulina Cy2 y Cy3 y la bisagra entre Cy1 y Cy. Se entiende en la técnica que los límites de la región Fc pueden variar, sin embargo, la región Fc de la cadena pesada de la IgG humana generalmente se define para comprender los residuos C226 o P230 hasta su extremo carboxilo, usando la numeración según el índice EU como en Kabat et al. (1991, NIH Publicación 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Va.). El término "región Fc" puede referirse a esta región aisladamente o a esta región en el contexto de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo. La "región Fc" incluye variantes alélicas naturales de la región Fc, así como regiones Fc modificadas, p. ej., que se modifican para modular la función efectora u otras propiedades, tales como la farmacocinética, la estabilidad o las propiedades de producción de un anticuerpo. Las regiones Fc también incluyen variantes que no muestran alteraciones en la función biológica. Por ejemplo, se pueden delecionar uno o más aminoácidos del extremo N o extremo C de la región Fc de una inmunoglobulina sin pérdida sustancial de la función biológica. Dichas variantes se pueden seleccionar según las reglas generales conocidas en la técnica para tener un efecto mínimo sobre la actividad (véase, p. ej., Bowie, et al., *Science* 247: 306-1310, 1990). Por ejemplo, para los anticuerpos IgG4, se puede introducir una sustitución de un solo aminoácido (S228P según la numeración de Kabat; denominado IgG4Pro) para eliminar la heterogeneidad observada en el anticuerpo IgG4 recombinante (véase, p. ej., Angal, et al., *Mol Immunol* 30:105-108, 1993).

Una "CE₅₀" tal y como se usa en la presente memoria en el contexto de un ensayo de unión al receptor Fc, se refiere a la mitad de la concentración efectiva máxima, que es la concentración de un anticuerpo que induce una respuesta (señal generada en el ensayo de unión) a mitad de camino entre la línea de base y el máximo después de un tiempo específico de exposición. Los ensayos de unión al receptor Fc se describen con más detalle en la presente memoria en la sección "Actividad de unión de variantes". En algunas realizaciones, "las veces sobre CE₅₀" se determinan dividiendo la CE₅₀ de un anticuerpo de referencia por la CE₅₀ del anticuerpo de ensayo.

El término "constante de disociación en equilibrio" abreviado (K_D), se refiere a la constante de la tasa de disociación (k_d, tiempo⁻¹) dividida por la constante de la tasa de asociación (k_a, tiempo⁻¹ M⁻¹). Las constantes de disociación en equilibrio se pueden medir usando cualquier método. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente divulgación tienen una K_D de menos de aproximadamente 50 nM, típicamente menos de aproximadamente 25 nM, o menos de 10 nM, p. ej., menos de aproximadamente 5 nM o de aproximadamente 1 nM y, a menudo, menos de aproximadamente 10 nM según lo determinado por análisis de resonancia de plasmón superficial usando un sistema de biosensor tal como un sistema Biacore® realizado a 37 °C. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 5 × 10⁻⁵ M, menos de 10⁻⁵ M, menos de 5 × 10⁻⁶ M, menos de 10⁻⁶ M, menos de 5 × 10⁻⁷ M, menos de 10⁻⁷ M, menos de 5 × 10⁻⁸ M, menos de 10⁻⁸ M, menos de 5 × 10⁻⁹ M, menos de 10⁻⁹ M, menos de 5 × 10⁻¹⁰ M, menos de 10⁻¹⁰ M, menos de 5 × 10⁻¹¹ M, menos de 10⁻¹¹ M, menos de 5 × 10⁻¹² M, menos de 10⁻¹² M, menos de 5 × 10⁻¹³ M, menos de 10⁻¹³ M, menos de 5 × 10⁻¹⁴ M, menos de 10⁻¹⁴ M, menos de 5 × 10⁻¹⁵ M, o menos de 10⁻¹⁵ M o inferior medido como un anticuerpo bivalente. En el contexto de la presente invención, una K_D "mejorada" se refiere a una K_D más baja. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 5 × 10⁻⁵ M, menos de 10⁻⁵ M, menos de 5 × 10⁻⁶ M, menos de 10⁻⁶ M, menos de 5 × 10⁻⁷ M, menos de 10⁻⁷ M, menos de 5 × 10⁻⁸ M, menos de 10⁻⁸ M, menos de 5 × 10⁻⁹ M, menos de 10⁻⁹ M, menos de 5 × 10⁻¹⁰ M, menos de 10⁻¹⁰ M, menos de 5 × 10⁻¹¹ M, menos de 10⁻¹¹ M, menos de 5 × 10⁻¹² M, menos de 10⁻¹² M, menos de 5 × 10⁻¹³ M, menos de 10⁻¹³ M, menos de 5 × 10⁻¹⁴ M, menos de 10⁻¹⁴ M, menos de 5 × 10⁻¹⁵ M, o menos de 10⁻¹⁵ M o menor medido como un anticuerpo monovalente, tal como un Fab monovalente. En algunas realizaciones, un

anticuerpo antitumoral de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 100 pM, p. ej., o menos de 75 pM, p. ej., en el rango de 1 a 100 pM, cuando se mide mediante análisis de resonancia de plasmón superficial usando un sistema de biosensor tal como un sistema Biacore® realizado a 37 °C. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación tiene una K_D de más de 100 pM, p. ej., en el rango de 100-1.000 pM o 500-1.000 pM cuando se mide mediante análisis de resonancia de plasmón superficial usando un sistema de biosensor tal como un sistema Biacore® sistema realizado a 37 °C.

El término "molécula monovalente", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que tiene un sitio de unión a antígeno, p. ej., un Fab o scFv.

El término "molécula bivalente", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que tiene dos sitios de unión a antígeno. En algunas realizaciones, una molécula bivalente de la presente divulgación es un anticuerpo bivalente o un fragmento del mismo. En algunas realizaciones, una molécula bivalente de la presente divulgación es un anticuerpo bivalente. En algunas realizaciones, una molécula bivalente de la presente divulgación es una IgG. En general, los anticuerpos monoclonales tienen una estructura básica bivalente. IgG e IgE tienen solo una unidad bivalente, mientras que IgA e IgM consisten en múltiples unidades bivalentes (2 y 5, respectivamente) y, por lo tanto, tienen valencias más altas. Esta bivalencia aumenta la avidéz de los anticuerpos por los antígenos.

Los términos "unión monovalente" o "se une de forma monovalente a" tal y como se usan en la presente memoria se refieren a la unión de un sitio de unión de antígeno a su antígeno.

Los términos "unión bivalente" o "se une de forma bivalente a" tal y como se usan en la presente memoria se refieren a la unión de ambos sitios de unión a antígeno de una molécula bivalente a su antígeno. En algunas realizaciones, ambos sitios de unión a antígeno de una molécula bivalente comparten la misma especificidad de antígeno.

El término "valencia", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere al número de sitios de unión diferentes de un anticuerpo para un antígeno. Un anticuerpo monovalente comprende un sitio de unión para un antígeno. Un anticuerpo bivalente comprende dos sitios de unión para el mismo antígeno.

El término "avidéz", tal y como se usa en la presente memoria en el contexto de la unión de un anticuerpo a un antígeno, se refiere a la fuerza de unión combinada de múltiples sitios de unión del anticuerpo. Así, "avidéz bivalente" se refiere a la fuerza combinada de dos sitios de unión.

Los términos "identidad" o porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos que son iguales (p. ej., al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o superior) de identidad sobre una región específica, p. ej., la longitud de las dos secuencias, cuando se comparan y alinean para la máxima correspondencia sobre una ventana de comparación o región designada. El alineamiento con el fin de determinar el porcentaje de identidad de las secuencias de aminoácidos se puede realizar en varios métodos, incluidos los que usan software disponible públicamente, tales como BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia los algoritmos BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al., Nuc. Acids Res. 25:3389-3402 (1977)) y Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990). Por lo tanto, para los fines de esta invención, BLAST 2.0 se puede usar con los parámetros por defecto para determinar el porcentaje de identidad de secuencia.

Los términos "correspondiente a", "determinado con referencia a" o "numerado con referencia a" cuando se usan en el contexto de la identificación de un residuo de aminoácido dado en una secuencia polipeptídica, se refieren a la posición del residuo de una determinada secuencia de referencia cuando la secuencia de aminoácidos dada se alinea al máximo y se compara con la secuencia de referencia. Así, por ejemplo, un residuo de aminoácido en una región polipeptídica V_H "corresponde a" un aminoácido en la región V_H de la SEQ ID NO: 1 cuando el residuo se alinea con el aminoácido en la SEQ ID NO: 1 cuando está óptimamente alineado con la SEQ ID NO: 1. El polipéptido que está alineado con la secuencia de referencia no necesita tener la misma longitud que la secuencia de referencia.

Una sustitución "conservativa" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a una sustitución de un aminoácido tal que se mantiene la carga, la polaridad, la hidropatía (hidrofóbica, neutra o hidrofílica) y/o el tamaño de la cadena del grupo lateral. Los conjuntos ilustrativos de aminoácidos que pueden sustituirse entre sí incluyen (i) aminoácidos Lys y Arg cargados positivamente; e His a pH de aproximadamente 6; (ii) aminoácidos cargados negativamente Glu y Asp; (iii) aminoácidos aromáticos Phe, Tyr y Trp; (iv) aminoácidos del anillo nitrogenado His y Trp; (v) aminoácidos hidrófobos alifáticos Ala, Val, Leu e Ile; (vi) los aminoácidos hidrófobos que contienen azufre Met y Cys, que no son tan hidrófobos como Val, Leu e Ile; (vii) pequeños aminoácidos polares no cargados Ser, Thr, Asp y Asn (viii) pequeños aminoácidos hidrófobos o neutros Gly, Ala y Pro; (ix) aminoácidos Asn y Gln que comprenden amida; y (xi) aminoácidos de ramificación beta Thr, Val e Ile. La referencia a la carga de un aminoácido en este párrafo se refiere a la carga a pH 6-7.

Los términos "ácido nucleico" y "polinucleótido" se usan indistintamente y, tal y como se usan en la presente memoria, se refieren tanto a cadenas con sentido como antisentido de ARN, ADNc, ADN genómico y formas sintéticas y polímeros mixtos de los anteriores. En realizaciones particulares, un nucleótido se refiere a un ribonucleótido,

desoxinucleótido o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido y combinaciones de los mismos. Los términos también incluyen, pero no se limitan a, formas de ADN mono y bicatenarias. Además, un polinucleótido, p. ej., un ADNc o ARNm, puede incluir nucleótidos de origen natural y modificados unidos entre sí mediante enlaces de nucleótidos de origen natural y/o no naturales. Las moléculas de ácido nucleico pueden modificarse química o bioquímicamente o pueden contener bases de nucleótidos no naturales o derivatizadas, como apreciarán fácilmente los expertos en la técnica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, etiquetas, metilación, sustitución de uno o más de los nucleótidos naturales con un análogo, modificaciones internucleotídicas tales como enlaces sin carga (p. ej., fosfonatos de metilo, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos, etc.), enlaces cargados (p. ej., fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), restos laterales (p. ej., polipéptidos), intercaladores (p. ej., acridina, psoraleno, etc.), quelantes, alquilantes y enlaces modificados (p. ej., ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.). El término anterior también pretende incluir cualquier conformación topológica, incluyendo conformaciones monocatenarias, bicatenarias, parcialmente en dúplex, tríplex, en horquilla, circulares y con candado. Una referencia a una secuencia de ácido nucleico abarca su complemento a menos que se especifique lo contrario. Así, una referencia a una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia particular debe entenderse que abarca su cadena complementaria, con su secuencia complementaria. El término también incluye ácidos nucleicos con codones optimizados que codifican la misma secuencia polipeptídica.

El término "vector", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al que está unido. El término incluye el vector como estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en donde se ha introducido. Un "vector", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una construcción recombinante en donde se inserta una secuencia de ácido nucleico de interés en el vector. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los que están unidos operativamente. Dichos vectores se denominan como se usa aquí "vectores de expresión".

Una "sustitución", tal y como se usa en la presente memoria, indica el reemplazo de uno o más aminoácidos o nucleótidos por diferentes aminoácidos o nucleótidos, respectivamente.

Un ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que normalmente contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente extracromosómicamente o en una ubicación cromosómica que es diferente de su ubicación cromosómica natural.

"Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo o fragmento del mismo" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesadas o ligeras de anticuerpos (o fragmentos de las mismas), incluidas dicha o dichas moléculas de ácido nucleico en un solo vector o vectores separados, y tale o tales moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula huésped.

Los términos "célula huésped", "línea de células huésped" y "cultivo de células huésped" se usan indistintamente y se refieren a células en donde se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluida la progenie de tales células. Por tanto, una célula huésped es una célula huésped recombinante e incluye la célula transformada primaria y la progenie derivada de la misma sin tener en cuenta el número de subcultivos.

Una "variante" de polipéptido, tal y como se usa el término en la presente memoria, es un polipéptido que típicamente difiere de una o más secuencias polipeptídicas divulgadas específicamente en la presente memoria en una o más sustituciones, deleciones, adiciones y/o inserciones.

El término "célula cancerosa" o "célula tumoral", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una célula neoplásica. El término incluye células de tumores tanto benignos como malignos. La transformación neoplásica se asocia con cambios fenotípicos de la célula tumoral en relación con el tipo de célula del que se deriva. Los cambios pueden incluir pérdida de la inhibición por contacto, cambios morfológicos y crecimiento celular no regulado,

"Inhibición del crecimiento de un tumor" e "inhibición del crecimiento de un cáncer" tal y como se usan en la presente memoria son intercambiables y se refieren a ralentizar el crecimiento y/o reducir la carga de células cancerosas de un paciente que tiene cáncer. "Inhibición del crecimiento de un cáncer" incluye por lo tanto matar células cancerosas, así como disminuir la tasa de crecimiento tumoral, tamaño tumoral, invasión y/o metástasis por efectos directos o indirectos sobre las células tumorales.

Tal y como se usa en la presente memoria, "agente terapéutico" se refiere a un agente que cuando se administra a un paciente que padece de una enfermedad, en una dosis terapéuticamente efectiva, curará o al menos detendrá parcialmente los síntomas de la enfermedad y las complicaciones asociadas con la enfermedad.

Anticuerpos que se unen a un tumor

En un aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos que se unen al tejido tumoral a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína. El complejo extracelular de ARN-proteína se describe más adelante en la sección titulada "**Diana de unión del anticuerpo**".

En las Tablas 1A y 2A se proporcionan secuencias de región variable de cadena pesada y ligera de anticuerpos de unión

a tumor ilustrativos de la presente divulgación. Un anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

Las posiciones de los residuos en las regiones variables de la cadena pesada se especifican en la presente memoria con referencia a una cualquiera de las secuencias de la región V_H (SEQ ID NO: 77-122, 1333-1526 y 1725) de la Tabla 1A y 2A, todas las cuales tienen 140 aminoácidos de longitud.

- 5 Las posiciones de los residuos en las regiones variables de la cadena ligera se especifican en la presente memoria con referencia a uno cualquiera de los 110 aminoácidos de las secuencias de la región V_L (SEQ ID NO: 123-168, 1527-1720 y 1726) que se muestran en las Tablas 1A y 2A.

10 La posición 140, numerada con respecto a las secuencias de la región V_H presentadas en las Tablas 1A y 2A, y la posición 110 de las secuencias de la región V_L presentadas en las Tablas 1A y 2A se consideran los últimos aminoácidos de las regiones V_H y V_L, respectivamente, según la numeración del índice EU. En un formato de IgG humana (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4), el resto posterior se denomina "codón de unión" y está codificado de forma nativa por la unión de la base 3' final del gen de la región variable (HJ o LJ) con las dos primeras bases 5' del gen de la región constante (pesada o ligera), y exhibe una variación de aminoácidos debido a la variación en la base 3' final de HJ y LJ. El codón de unión de la cadena pesada humana puede ser de forma nativa Ala, Ser, Pro o Thr, y normalmente es una Ala. El codón de unión de la cadena kappa humana puede ser de forma nativa Arg o Gly, y normalmente es una Arg. El codón de unión de la cadena lambda humana puede ser de forma nativa Gly, Ser, Arg o Cys, y normalmente es una Ser o Gly.

20 Las CDR que se muestran en la Tabla 1B y la Tabla 2B están definidas por IMGT y Kabat. Las CDR de cadena pesada abarcan residuos de aminoácidos de los residuos de aminoácidos 26-35 (HCDR1), 50-68 (HCDR2) y 99-129 (HCDR3). Las CDR de cadena ligera abarcan residuos de aminoácidos de los residuos de aminoácidos 23-35 (LCDR1), 51-57 (LCDR2) y 90-100 (LCDR3). La numeración de los residuos corresponde a las posiciones en las secuencias de V_H y V_L en las Tablas 1A y 2A. Las CDR de V_H enumeradas en la Tabla 1B y la Tabla 2B se definen de la siguiente manera: HCDR1 se define mediante la combinación de Kabat e IMGT; HCDR2 está definida por Kabat; y el HCDR3 está definida por IMGT. Las CDR de V_L enumeradas en la Tabla 1B y la Tabla 2B están definidas por Kabat. Como se sabe en la técnica, la numeración y ubicación de las CDR pueden diferir según el sistema de numeración empleado. Se entiende que la divulgación de una secuencia pesada variable y/o ligera variable incluye la divulgación de las CDR asociadas, independientemente del sistema de numeración empleado.

Usando AIP-160470 como secuencia de referencia, la FIG. 37 muestra la numeración de los residuos en las secuencias de V_H y V_L de AIP-160470 usando los sistemas de numeración IMGT, Kabat y Chothia.

- 30 Las CDR definidas usando el sistema de numeración IMGT son:

HCDR1: 27-38 (excluyendo las posiciones 31-34)
HCDR2: 56-65
HCDR3: 105-117 (incluyendo 18 inserciones entre 111 y 112)
LCDR1: 27-38 (excluyendo las posiciones 31-34)
35 LCDR2: 56-65 (excluyendo las posiciones 58-64) y
LCDR3: 105-117 (excluyendo las posiciones 111-112).

En consecuencia, las CDR de IMGT correspondientes para AIP-160470 son:

HCDR1: GFTFSKAW
HCDR2: IKSVDGETT
40 HCDR3: TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV
LCDR1: SSNIGSSS
LCDR2: KNN
LCDR3: STWDDSLSVRV.

Las CDR definidas usando el sistema de numeración de Kabat son:

45 HCDR1: 31-35
HCDR2: 50-65 (incluyendo las inserciones de 52a, 52b y 52c)
HCDR3: 95-102 (incluyendo las inserciones de 100a-100u)

LCDR1: 24-34 (incluyendo las inserciones de 27a y 27b)

LCDR2: 50-56

LCDR3: 89-97 (incluyendo las inserciones de 95a y 95b).

En consecuencia, las CDR de KABAT correspondientes para AIP-160470 son:

5 HCDR1: KAWMS
HCDR2: RIKSVTDGETTDYAAPVKG
HCDR3: SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV
LCDR1: SGSSSNIGSSSVS
LCDR2: KNNQRPS
10 LCDR3: STWDDSLSVRV

Las CDR definidas usando el sistema de numeración de Chothia son:

HCDR1: 26-32;
HCDR2: 52-56 (incluyendo las inserciones de 52a, 52b y 52c)
HCDR3: 95-102 (incluyendo las inserciones de 100a-100u)
15 LCDR1: 24-34 (incluyendo las inserciones de 30a y 30b)
LCDR2: 50-56
LCDR3: 89-97 (incluyendo las inserciones de 95a y 95b).

En consecuencia, las CDR de Chothia correspondientes para AIP-160470 son:

HCDR1: GFTFSKA
20 HCDR2: KSVTDGET
HCDR3: SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV
LCDR1: SGSSSNIGSSSVS
LCDR2: KNNQRPS
LCDR3: STWDDSLSVRV

25 *Regiones V_H*

Un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación que se une a un complejo extracelular de ARN-proteína, p. ej., que tiene actividad en un ensayo de unión a FcyRIIIa, tiene una, dos o tres CDR de una secuencia de V_H como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A. El anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

30 Algunos anticuerpos de unión a tumor divulgados tienen al menos una mutación y no más de 10, 20, 30, 40 o 50 mutaciones en las secuencias de aminoácidos de V_H en comparación con una secuencia de V_H mostrada en una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones divulgadas, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones o deleciones de aminoácidos en comparación con una secuencia de V_H mostrada en una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725.
35 En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender una deleción o inserción, p. ej., deleciones o inserciones de 1, 2, 3, 4 ó 5 aminoácidos, en relación con una secuencia CDR mostrada en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender una deleción o inserción de 1 aminoácido o 2 aminoácidos con respecto a una secuencia CDR mostrada en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR1 que tiene 1 o 2 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8 o 169-362. En algunas realizaciones, una HCDR1 tiene
40 3 o 4 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8 o 169-362. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR2 que tiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19 o 363-556. En algunas realizaciones, la región V_H tiene 5, 6, 7 u 8 sustituciones con respecto a una secuencia CDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19 o 363-556. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR3 que tiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones con respecto a una
45 secuencia de CDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o 557-750 o 1727. En algunas realizaciones, la región

V_H tiene 5, 6, 7 u 8 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o 557-750 o 1727. En algunas realizaciones, la región V_H tiene 9, 10, 11, 12, 13 o 14 sustituciones con respecto a una CDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o 557-750 o 1727. En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 80 % de identidad con una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1B o 2B. En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 90 % de identidad con una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 en la Tabla 1.

En algunas realizaciones, una región V_H de un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación tiene una exposición al disolvente de cada cadena lateral de CDR, en términos de Angstroms cuadrados, como se especifica en este párrafo, en base a una estructura cristalina Fab de un anticuerpo ilustrativo. La clasificación como enterrado, intermedio o expuesto se basa en los valores de punto corte de la siguiente manera: menos de aproximadamente 10 Å², aproximadamente 10-50 Å², o mayor de aproximadamente 50 Å², respectivamente. Las posiciones se determinan con referencia a una cualquiera de las secuencias de la región V_H proporcionadas en la Tabla 1A o la Tabla 2A. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR1 en donde se exponen las posiciones 26, 27, 28, 29, 30 y 31; la posición 32 está enterrada; la posición 33 está expuesta; y las posiciones 34 y 35 son intermedias. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR2 en donde la posición 50 es intermedia; la posición 51 está expuesta; la posición 53 está enterrada; las posiciones 54, 55, 56, 57, 58, 59 y 60 están expuestas; la posición 61 es intermedia; y las posiciones 62, 63, 64, 65, 66, 67 y 68 están expuestas. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR3 en donde se la posición 99 está expuesta; la posición 100 está enterrada; la posición 101 es intermedia; las posiciones 102, 103 y 104 están enterradas; las posiciones 105, 106, 107 y 108 están expuestas; las posiciones 109 y 110 están enterradas; la posición 111 es intermedia; las posiciones 112 y 113 están expuestas; la posición 114 es intermedia; las posiciones 115 y 116 están expuestas; la posición 117 es intermedia; la posición 118 está expuesta; la posición 119 es intermedia; la posición 120 está expuesta; la posición 121 es intermedia; las posiciones 122 y 123 están expuestas; la posición 124 es intermedia; y las posiciones 125, 126, 127, 128 y 129 están expuestas. En algunas realizaciones, un residuo que se clasifica como "enterrado" comprende una sustitución, en relación con una CDR mostrada en la CDR de la Tabla 1B o la Tabla 2B, que es una sustitución conservativa que mantiene la carga y el tamaño aproximado para mantener la conformación del anticuerpo. En algunas realizaciones, se sustituye un residuo clasificado como "expuesto", p. ej., con una sustitución conservativa, o con un residuo que proporciona una unión mejorada a las células cancerosas en comparación con la secuencia parental, como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A.

En algunas realizaciones, la HCDR3 de un anticuerpo de unión a tumor como se describe en la presente memoria tiene al menos un 60 % de identidad, al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, al menos un 85 %, al menos un 90 % de identidad o al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las secuencias de HCDR3 mostradas en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, al menos dos, tres o los cuatro residuos de cisteína en una secuencia de HCDR3 como se describe en la presente memoria se conservan en una variante. En realizaciones adicionales, la HCDR3 tiene una longitud de al menos 27, 28, 29 o 30 aminoácidos. En realizaciones típicas, la HCDR3 tiene una longitud de 31 aminoácidos.

En algunas realizaciones, la región FR1 de una región V_H de un anticuerpo de unión a tumor como se describe en la presente memoria tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR1 de las posiciones 1 a 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la región FR1 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a la 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 1 a la 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725.

En algunas realizaciones, la región FR2 de una región V_H de un anticuerpo de unión a tumor como se describe en la presente memoria con al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la región FR2 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 36 a 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725.

En algunas realizaciones, la región FR3 de una región V_H de un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la región FR3 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la

posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725.

En algunas realizaciones, la región FR4 de una región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 130 a 140 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, la región FR4 comprende una sustitución en una o dos de las posiciones 130 a 140 con respecto a la secuencia correspondiente de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena pesada GFTFSKAWM(S/T). En algunas realizaciones, la CDR1 comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En realizaciones alternativas, la CDR1 comprende GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR1 comprende N en la posición 30, N en la posición 31; y/o Y en la posición 33. En algunas realizaciones, la CDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad con la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO:1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8).

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de HCDR2 de cadena pesada RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)T(D/E)YAAPVKG. En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)TDYAAPVKG. En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKSTSDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia sustituida que tiene una o más de las siguientes posiciones: la posición 51 es V; la posición 54 es K o T; la posición 55 es S; la posición 56 es S; la posición 58 es G; la posición 59 es I; la posición 60 es K; o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia sustituida en donde la posición 51 es V; la posición 54 es V, K o T; la posición 55 es T, la posición 58 es E; la posición 59 es T; la posición 60 es K; y/o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, si la HCDR2 comprende una secuencia en donde la posición 56 es S, la HCDR1 comprende una W en la posición 33. En algunas realizaciones, la HCDR2 tiene al menos un 60% de identidad, o al menos 70% de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, con la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la secuencia de CDR2 tiene al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) o RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17).

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor comprende una secuencia de CDR3 de V_H T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)(Y/D)(K/N/S)(S/R)AAAAMDV. En algunas realizaciones, la HCDR3 comprende una cualquiera de las secuencias de HCDR3 que se muestran en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, la HCDR3 comprende una secuencia como se muestra en la Tabla 1B o la Tabla 2B en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia de CDR3. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR3 comprende V en la posición 99, T en la posición 100, R en la posición 108, D en la posición 111, R en la posición 112, Y en la posición 116 y/o S en la posición 120. En algunas realizaciones, una CDR3-de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNSYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYYMDV. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYYMDV,

T(S/T) SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYYMDV.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena pesada GFTFSKAWM (S/T). En algunas realizaciones, la HCDR1 comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En realizaciones alternativas, la HCDR1 comprende GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, 1,

2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR1 comprende N en la posición 30, N en la posición 31; y/o Y en la posición 33. En algunas realizaciones, la HCDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad con la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO:1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8).

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR2 de cadena pesada RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)T(D/E)YAAPVKG. En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)TDYAAPVKG. En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la HCDR2 comprende RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSTSDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia sustituida que tiene una o más de las siguientes posiciones: la posición 51 es V; la posición 54 es K o T; la posición 55 es S; la posición 56 es S; la posición 58 es G; la posición 59 es I; la posición 60 es K; o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la HCDR2 comprende una secuencia sustituida en donde la posición 51 es V; la posición 54 es V, K o T; la posición 55 es T, la posición 58 es E; la posición 59 es T; la posición 60 es K; y/o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, si la HCDR2 comprende una secuencia en donde la posición 56 es S, la HCDR1 comprende una W en la posición 33. En algunas realizaciones, la HCDR2 tiene al menos un 60% de identidad, o al menos 70% de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, con la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la secuencia de CDR2 tiene al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) o RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17).

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende una secuencia de CDR3 de V_H T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)(Y/D)(K/N/S)(S/R)YYYMDV. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una cualquiera de las secuencias de CDR3 que se muestran en la Tabla 1 o la Tabla 2. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una secuencia de CDR3 como se muestra en la Tabla 1 o la Tabla 2 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia de CDR3. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR3 comprende V en la posición 99, T en la posición 100, R en la posición 108, D en la posición 111, R en la posición 112, Y en la posición 116 y/o S en la posición 120. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNSYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDT(S/Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDT(S/Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDT(S/Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDT(S/Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV.

Regiones V_L

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación que se une a un complejo extracelular de ARN-proteína, p. ej., que tiene actividad en un ensayo de unión a FcyRIIIa, tiene una, dos o tres CDR de una secuencia de V_L como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A. El anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de unión a tumor tiene al menos una mutación y no más de 10, 20, 30, 40 o 50 mutaciones en las secuencias de aminoácidos de V_L en comparación con una secuencia de V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones o deleciones de aminoácidos en comparación con una secuencia de V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender una delección o inserción, p. ej., una delección o inserción de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7

aminoácidos, en relación con una secuencia de CDR que se muestra en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender una delección o inserción de 1 aminoácido o 2 aminoácidos con respecto a una secuencia de CDR mostrada en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una CDR1 que tiene 1 o 2 sustituciones en relación con una secuencia de CDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58 o 751-944. En algunas realizaciones, una CDR1 tiene 3, 4 o 5 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58 o 751-944. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una CDR2 que tiene 1 o 2; o 1, 2 o 3; sustituciones con respecto a la secuencia CDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67 o 945-1138. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una CDR3 que tiene 1, 2 o 3; o 1, 2, 3 o 4; sustituciones con respecto a una secuencia de CDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76 o 1139-1332. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una con al menos un 70 % de identidad con una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1 o la Tabla 2. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 80 % de identidad con una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1B o la Tabla 2B.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 en la Tabla 1A.

En algunas realizaciones, una región V_L de un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación tiene una exposición al disolvente de cada cadena lateral de CDR, en términos de Angstroms cuadrados, como se especifica en este párrafo, que se basa en una estructura de cristal de Fab de un anticuerpo ilustrativo. La clasificación como enterrado, intermedio o expuesto se basa en los valores de punto corte de la siguiente manera: menos de aproximadamente 10 Ang², aproximadamente 10-50 Ang², o mayor de aproximadamente 50 Ang², respectivamente. Las posiciones se determinan con referencia a una cualquiera de las secuencias de la región V_L proporcionadas en la Tabla 1A. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR1 en donde la posición 23 está expuesta; la posición 24 es intermedia; las posiciones 25 y 26 están expuestas; las posiciones 27 y 28 son intermedias; las posiciones 29, 30 y 31 están expuestas; las posiciones 32, 33 y 34 son intermedias; y la posición 35 queda expuesta. En algunas realizaciones, una V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR2 en donde las posiciones 51, 52, 53, 54, 55, 56 y 57 están expuestas. En algunas realizaciones, una V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR3 en donde la posición 90 está expuesta; la posición 91 está enterrada, la posición 92 está expuesta; la posición 93 está enterrada, las posiciones 94, 95, 96 y 97 están expuestas; la posición 99 es intermedia; y la posición 100 queda expuesta. En algunas realizaciones, un residuo que se clasifica como "enterrado" comprende una sustitución, en relación con una CDR de la Tabla 1B o la Tabla 2B, que es una sustitución conservativa que mantiene la carga y el tamaño aproximado para mantener la conformación del anticuerpo. En algunas realizaciones, un residuo clasificado como "expuesto" se sustituye, p. ej., con una sustitución conservativa o con un residuo que proporciona una unión mejorada a las células cancerosas en comparación con una secuencia como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 28 es Y o H. En algunas realizaciones, la posición 30 es E. En algunas realizaciones, la posición 32 es N. En algunas realizaciones, la posición 33 es Y o F. En algunas realizaciones, la posición 35 es D o E. En algunas realizaciones, la CDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad o al menos un 90 % de identidad con la secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48).

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR2 de cadena ligera (K/R)(N/D)(N/D)QRPS. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia de CDR2 como se muestra en la Tabla 1 o la Tabla 2. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia de CDR2 KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 51 es R, la posición 52 es D y/o la posición 53 es D. En algunas realizaciones, la secuencia de CDR2 tiene al menos un 60 % o al menos un 70 % de identidad con la secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59).

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación comprende una secuencia de CDR3 de V_L STWD(D/E)SLSV(R/W)V. En algunas realizaciones, la secuencia de CDR3 comprende STWD(D/E)SLSVRV. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una secuencia de CDR3 como se muestra en la Tabla 1 o la Tabla 2. En algunas realizaciones, la secuencia de CDR3 comprende STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68) o STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68) o STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 90 es A, la posición 91 es I y/o la posición 97 es G.

En algunas realizaciones, la región FR1 de una región V_L de un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a la 22 de una secuencia

de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la región FR1 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a la 22 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de las posiciones 1 a 22 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1.

5 En algunas realizaciones, la región FR2 de una región VL de un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 50 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la región FR2 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 50 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de las posiciones 36 a 50 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1.

10 En algunas realizaciones, la región FR3 de una región VL de un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 58 a la 89 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la región FR3 tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 58 a la 89 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 58 a la 89 de una secuencia de región VL de la Tabla 1.

15 En algunas realizaciones, la región FR4 de una región VH comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 101 a la 110 de una secuencia de la región VL de la Tabla 1. En algunas realizaciones, la región FR4 comprende una sustitución en una o dos de las posiciones 101 a 110 con respecto a la secuencia correspondiente de una secuencia de región VL de la Tabla 1.

20 En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una región CDR1, CDR2 y/o una CDR3 de VL como se describe en los párrafos anteriores es esta sección. En algunas realizaciones, uno o dos de las secuencias de CDR de VL comprenden una secuencia de CDR como se muestra en la Tabla 1. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una región CDR1, CDR2 y/o una CDR3 de VL como se describe en los párrafos anteriores de esta sección y tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las secuencias de VL como se muestra en la Tabla 1. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 como se muestra en la Tabla 1 y tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos un 80 % de identidad o al menos 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las secuencias de VL como se muestra en la Tabla 1.

30 En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor comprende una LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 y comprende al menos el 80 % o al menos el 90 % de identidad con la correspondiente secuencia de VL que se muestra en la Tabla 1, o comprende la secuencia de VL de la secuencia correspondiente de VL en la Tabla 1.

35 *Anticuerpos ilustrativos*

Un anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

Con fines ilustrativos, en algunas realizaciones divulgadas, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se une a un tumor a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende CDR de cadena ligera y pesada que se muestran en la Tabla 1 o la Tabla 2. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8 o 169-362, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19 o 363-556, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o 557-750 o 1727 o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58 o 751-944, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67 o 945-1138, o una variante de la misma en donde 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; y una LCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76 o 1139-1332, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia. En algunas realizaciones, al menos 1 o 2 de las sustituciones son sustituciones conservativas. En algunas realizaciones, al menos el 50 % o al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de las sustituciones, en relación con la secuencia de CDR referenciada en la Tabla 1 o la Tabla 2, son sustituciones conservativas.

55 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8 o 169-362, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19 o 363-556, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o 557-750 a 1727 o una variante de la misma en donde 1, 2 o 3; o en donde 1 o 2; los aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58 o 751-944, o una variante de la misma en donde

1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67 o 945-1138, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; y una LCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76 o 1139-1332, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia. En algunas realizaciones, al menos 1 o 2 de las sustituciones son sustituciones conservativas.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se une a un tumor a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende seis CDR de un anticuerpo designado en la Tabla 1A o la Tabla 2A; o una variante del anticuerpo en donde al menos una CDR, al menos dos CDR, al menos tres CDR, al menos cuatro CDR, al menos cinco CDR o las seis CDR tienen de 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en comparación con la CDR correspondiente del anticuerpo que se muestra en la Tabla 1A o 2A.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo de unión a tumor que se une a un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende CDR según la siguiente fórmula. Para cada CDR, un residuo "X" está numerado por su posición en la CDR, p. ej., X3 está en la tercera posición de CDR.

(a) una secuencia de HCDR1 G(F/Y)X₃X₄(A/S)X₆A(W/Y)X₉(S/T) (SEQ ID NO: 1734), en donde X₃ es D, T o V; X₄ es A, F o Y; X₆ es A, H, K, M, N o R; y X₉ es F, M o Y;

(b) una secuencia de HCDR2 (F/R)I(K/Q)(A/S)X₅X₆X₇(A/G)X₉X₁₀T(D/E)(A/S)(P/S)(K/Q) (SEQ ID NO: 1735), donde X₅ es A, N, T o V; X₆ es D, H, Q, S o T; X₇ es D, E o N; X₉ es E, G, H, K o Q; y X₁₀ es A, I, Q o T;

(c) una secuencia de HCDR3 (I/T)(S/T)X₃(F/Y)X₅CX₇(G/S)X₉X₁₀CX₁₂X₁₃X₁₄(D/E)X₁₆SX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅(F/Y)(F/Y)X₂₈X₂₉(D/N)X₃₁ (SEQ ID NO: 1736), en donde X₃ es A, P, S o T; X₅ es A, C o S; X₇ es H, L, Q o R; X₉ es A, G, K o N; X₁₀ es A, N, Q, R o S; X₁₂ es A, L o P; X₁₃ es A, N o S; X₁₄ es H, Q, R o S; X₁₆ es N, Q o T; X₁₈ es F, M o Y; X₁₉ es C, S o V; X₂₀ es A, G o N; X₂₁ es A, G o N; X₂₂ es Q, S o Y; X₂₃ es D, F, N, S o Y; X₂₄ es A, K, N, P, Q o S; X₂₅ es D, K, Q, R o S; X₂₈ es F, L, W o Y; X₂₉ es F, M o V; y X₃₁ es I, P o V;

(d) una secuencia de LCDR1 X₁G(A/S)X₄(S/T)(D/N)I(G/Q)(H/S)X₁₀X₁₁(T/V)X₁₃ (SEQ ID NO: 1737), en donde X₁ es H, S o T; X₄ es E, K, P o S; X₁₀ es A, H, N, S o T; X₁₁ es A, D, S, T o Y; y X₁₃ es A, L, S, T o Y;

(e) una secuencia de LCDR2 X₁(D/N)X₃X₄(Q/R)(A/P)X₇ (SEQ ID NO: 1738), en donde X₁ es A, H, K, M, N o R; X₃ es N, S o T; X₄ es A, L, Q o Y; y X₇ es L, Q, S o Y; y

(f) una secuencia de LCDR3 (A/S)(S/T)(F/W)(D/N)X₅X₆X₇X₈(I/V)X₁₀(I/V) (SEQ ID NO: 1739), en donde X₅ es D, E o N; X₆ es A, D, Q o S; X₇ es L, N o S; X₈ es L, N, S o T; y X₁₀ es H, K, Q, R o W. En algunas realizaciones, cada CDR de cadena pesada o ligera del anticuerpo difiere de una CDR de cadena pesada o ligera correspondiente en la Tabla 1A o la Tabla 2A en no más de dos aminoácidos, o en no más de un aminoácido.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se une a un tumor a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende seis CDR de un anticuerpo que se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A, o una variante del mismo en donde al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o las seis CDR comprenden 1 o 2 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de CDR correspondiente en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se une a un tumor a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende seis CDR de un anticuerpo que se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A, o una variante del mismo en donde al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o las seis CDR comprenden 1 o 2 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de CDR correspondiente en la Tabla 1B o la Tabla 2B. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis CDR de un anticuerpo designado como AIP-192482, AIP-171142, AIP-165430, AIP-189526, AIP-122563, AIP-158623, AIP-155066, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-102396, AIP-150055, AIP-167084, AIP-185304, AIP-134770, AIP-141887, AIP-196203, AIP-128195, AIP-116579, AIP-192329, AIP-197809, AIP-142489, AIP-167726, AIP-199834, AIP-143179, AIP-195587, AIP-153462, AIP-115363, AIP-151090, AIP-168083, AIP-161082, AIP-114196, AIP-189338, AIP-183190, AIP-110143, AIP-147176, AIP-134312, AIP-128243, AIP-156172, AIP-147389, AIP-124314, AIP-185291, AIP-135247, AIP-113513, AIP-102299, AIP-179097, AIP-109343, AIP-119622, AIP-191735, AIP-157078, AIP-153475, AIP-133650, AIP-190915, AIP-167400, AIP-109729, AIP-151709, AIP-136628, AIP-101601, AIP-146871, AIP-170053, AIP-199483, AIP-162041, AIP-180675, AIP-183133, AIP-191470, AIP-151167, AIP-106633, AIP-102624, AIP-109484, AIP-126080, AIP-161571, AIP-163039, AIP-101235, AIP-182061, AIP-181246, AIP-192216, AIP-171912, AIP-172872, AIP-167833, AIP-190051, AIP-145518, AIP-167533, AIP-112580, AIP-143155, AIP-119664, AIP-190526, AIP-114403, AIP-156760, AIP-103803, AIP-195588, AIP-145722, AIP-178251, AIP-116142, AIP-183350, AIP-127108, AIP-128147, AIP-109510, AIP-104086, AIP-143132, AIP-170105, AIP-169636, AIP-152243, AIP-138776, AIP-103817, AIP-130491, AIP-188155, AIP-167246, AIP-106139, AIP-198351, AIP-159326, AIP-192275, AIP-190761, AIP-166832, AIP-148062, AIP-129145, AIP-111240, AIP-153888, AIP-130915, AIP-109048, AIP-170569, AIP-154873, AIP-159037, AIP-186826, AIP-156514, AIP-157122, AIP-173276, AIP-150485, AIP-166847, AIP-124013, AIP-126285, AIP-168605, AIP-190274, AIP-136060, AIP-180422, AIP-166722, AIP-127782, AIP-189473, AIP-192571, AIP-112328, AIP-125258, AIP-150199, AIP-125062, AIP-177193, AIP-115388, AIP-107759, AIP-170221, AIP-143369, AIP-189475, AIP-102833, AIP-157045, AIP-175775, AIP-154181, AIP-125984, AIP-160829, AIP-184744, AIP-128136, AIP-181273, AIP-153125 o AIP-131972, o una variante de los mismos en

donde al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o las seis CDR comprenden 1 o 2 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de CDR correspondiente en la Tabla 2B.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo de unión a tumor que se une a un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende CDR según la siguiente fórmula. Para cada CDR, un residuo "X" está numerado por su posición en la CDR, p. ej., X3 está en la tercera posición de CDR.

(a) una secuencia de HCDR1 G(F/Y)X₃X₄(A/S)X₆A(W/Y)(F/M)(S/T), en donde X₃ es D, T o V; X₄ es A, F o Y; y X₆ es A, H, K, M o N;

(b) una secuencia de HCDR2 RIK(A/S)X₅X₆(D/N)(A/G)X₉X₁₀(D/E)(A/S)(P/S)(K/Q), en donde X₅ es A, N, T o V; X₆ es D, H, Q, S o T; X₉ es E, G, H, K o Q; y X₁₀ es A, I, Q o T;

(c) una secuencia de HCDR3 (I/T)(S/T)X₃(F/Y)CCX₇(G/S)X₉X₁₀CX₁₂(N/S)X₁₄(D/E)TS(F/Y)CX₂₀(G/N)X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅(F/Y)YX₂₈X₂₉(D/N)X₃₁, en donde X₃ es A, P o S; X₇ es H, L, Q o R; X₉ es A, G, K o N; X₁₀ es A, N, Q, R o S; X₁₂ es A, L o P; X₁₄ es H, Q, R o S; X₂₀ es A, G o N; X₂₂ es Q, S o Y; X₂₃ es D, F, N o Y; X₂₄ es A, K, N, P o Q; X₂₅ es D, Q, R o S; X₂₈ es F, L, W o Y; X₂₉ es F, M o V; y X₃₁ es I, P o V;

(d) una secuencia de LCDR1 (S/T)G(A/S)X₄(S/T)(D/N)IG(H/S)X₁₀X₁₁(T/V)X₁₃, en donde X₄ es K, P, o S, X₁₀ es A, N, S o T; X₁₁ es A, S, T o Y; y X₁₃ es A, S, T o Y;

(e) una secuencia de LCDR2 X₁(D/N)X₃X₄(Q/R)(A/P)X₇, en donde X₁ es A, H, K, M, N o R; X₃ es N, S o T; X₄ es A, L, Q o Y, y X₇ es L, Q, S o Y; y

(f) una secuencia de LCDR3 (A/S)(S/T)W(D/N)X₅X₆X₇X₈(I/V)X₁₀(I/V), en donde X₅ es D, E o N, X₆ es A, D, Q o S, X₇ es L, N o S; X₈ es L, N, S o T; y X₁₀ es H, K, Q o R.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos de unión a tumor que comprenden una V_H que tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos un 80 % de identidad o al menos un 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad o al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526 o 1725. En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos antitumorales que comprenden una V_L que tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos un 80 % de identidad o al menos un 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad o al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720 o 1726.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor comprende un V_H que comprende una secuencia de aminoácidos de una de las SEQ ID NO: 77-122 o 1333-1526; o una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 o 1527-1720.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende la V_H y la V_L de uno cualquiera de los anticuerpos designados por el número AIP (un "anticuerpo AIP") en la Tabla 1A o la Tabla 2A. En algunas realizaciones, el anticuerpo de unión a tumor es una variante del anticuerpo en donde la V_H tiene al menos un 85 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad; o al menos 95% de identidad; y una V_L que tiene al menos un 85 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad; o al menos 95 % de identidad con la secuencia de V_H del anticuerpo AIP como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A y la V_L tiene al menos un 85 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad; o al menos un 95 % de identidad con la secuencia de V_L del anticuerpo AIP como se muestra en la Tabla 1A o la Tabla 2A. En algunas realizaciones, la variante del anticuerpo no tiene más de diez mutaciones, o no más de nueve mutaciones, no más de ocho mutaciones, o no más de siete mutaciones en total en las secuencias de CDR de cadena ligera y pesada en comparación con la secuencia de CDR del anticuerpo AIP. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene seis, cinco, cuatro, tres, dos o una mutación en total en las secuencias CDR de cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de CDR del anticuerpo AIP. En algunas realizaciones, todas las mutaciones son sustituciones relativas a la secuencia del anticuerpo AIP como se muestra en la Tabla 1.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la divulgación tiene las CDR de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene además al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con las correspondientes secuencias de V_H y V_L que se muestran en la Tabla 1.

Anticuerpos que exhiben actividad antitumoral

En un aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos que exhiben efectos inhibidores sobre los tumores, incluida la disminución de la tasa de crecimiento del tumor, el tamaño, la invasión del tumor y/o la metástasis. Dichos anticuerpos exhiben efectos antitumorales *in vivo*, p. ej., cuando se administra a sujetos que tienen un tumor que tiene un complejo extracelular de ARN-proteína. En algunas realizaciones, una región V_H o una región V_L de dicho anticuerpo tiene al menos dos, tres, cuatro, cinco o seis, o más modificaciones, p. ej., sustituciones, en relación con

las secuencias de anticuerpos ilustrativas como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende un anticuerpo como se muestra en la Tabla 1A (designación AIP AIP-101235, AIP-127782, AIP-189473, AIP-192571, AIP-125258, AIP-150199, AIP-115388, AIP-143369, AIP-157045, AIP-175775, AIP-154181, AIP-125984, AIP-160829, AIP-184744, AIP-128136, AIP-181273, AIP-153125, AIP-160470, AIP-192482, AIP-171142, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-122563, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-104188, AIP-106042, AIP-100196, AIP-180675, AIP-170105, AIP-126080, AIP-161571, AIP-181246, AIP-192216, AIP-168605, AIP-172872, AIP-190051, AIP-167533, AIP-112580, AIP-136060), o una variante del mismo como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende las seis CDR de un anticuerpo como se muestra en la Tabla 1B (designación AIP AIP-101235, AIP-127782, AIP-189473, AIP-192571, AIP-125258, AIP-150199, AIP-115388, AIP-143369, AIP-157045, AIP-175775, AIP-154181, AIP-125984, AIP-160829, AIP-184744, AIP-128136, AIP-181273, AIP-153125, AIP-160470, AIP-192482, AIP-171142, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-122563, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-104188, AIP-106042, AIP-100196, AIP-180675, AIP-170105, AIP-126080, AIP-161571, AIP-181246, AIP-192216, AIP-168605, AIP-172872, AIP-190051, AIP-167533, AIP-112580, AIP-136060), o una variante del mismo como se describe en la presente memoria.

Regiones V_H

Un anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

Algunos anticuerpos antitumorales de la presente divulgación tienen una, dos o tres CDR de una secuencia de V_H como se muestra en la Tabla 1. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral tiene al menos una mutación y no más de 10, 20, 30, 40 o 50 mutaciones en la secuencia de aminoácidos de V_H en comparación con una secuencia de V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones o deleciones de aminoácidos en comparación con una secuencia de V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender una deleción o inserción, p. ej., deleciones o inserciones de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos, en relación con una secuencia CDR de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_H puede comprender una deleción o inserción de 1 aminoácido o 2 aminoácidos en relación con una secuencia CDR de una región de V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una HCDR1 que tiene 1 o 2 sustituciones en relación con una secuencia de HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8. En algunas realizaciones, una HCDR1 tiene 3 o 4 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una HCDR2 que tiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19. En algunas realizaciones, la región V_H tiene 5, 6, 7 u 8 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una HCDR3 que tiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47. En algunas realizaciones, la región V_H tiene 5, 6, 7 u 8 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47. En algunas realizaciones, la región V_H tiene 9, 10, 11, 12, 13 o 14 sustituciones con respecto a una secuencia de HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, de la región V_H, teniendo cada una con al menos un 80 % de identidad con las correspondientes CDR1, CDR2 y CDR3 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 90 % de identidad con la correspondiente CDR1, CDR2 y CDR3 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, un anticuerpo de unión a tumor de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 en la Tabla 1A.

En algunas realizaciones, una región V_H del anticuerpo antitumoral de la presente divulgación tiene una exposición al disolvente de cada cadena lateral de CDR, en términos de Angstroms cuadrados, como se especifica en este párrafo, en base a una estructura de cristal de Fab de un anticuerpo ilustrativo. La clasificación como enterrado, intermedio o expuesto se basa en los valores de punto corte de la siguiente manera: menos de aproximadamente 10 Å², aproximadamente 10-50 Å², o mayor de aproximadamente 50 Å², respectivamente. Las posiciones se determinan con referencia a una cualquiera de las secuencias de la región V_H de las SEQ ID NO: 77-122 de la Tabla 1A. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR1 en donde las posiciones 26, 27, 28, 29, 30 y 31 están expuestas; la posición 32 está enterrada; la posición 33 está expuesta; y las posiciones 34 y 35 son intermedias. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR2 en donde la posición 50 es intermedia; la posición 51 está expuesta; la posición 53 está enterrada; las posiciones 54, 55, 56, 57, 58, 59 y 60 están expuestas; la posición 61 es intermedia; y las posiciones 62, 63, 64, 65, 66, 67 y 68 están expuestas. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR3 en donde la posición 99 está expuesta; la posición 100 está enterrada; la posición 101 es intermedia; las posiciones 102, 103 y 104 están enterradas; las posiciones 105, 106, 107 y 108 están expuestas; las posiciones 109 y 110 están enterradas; la posición 111 es intermedia; las posiciones 112 y 113 están expuestas; la posición 114 es intermedia; las posiciones 115 y 116 están expuestas; la posición 117 es intermedia; la posición 118 está expuesta; la

posición 119 es intermedia; la posición 120 está expuesta; la posición 121 es intermedia; las posiciones 122 y 123 están expuestas; la posición 124 es intermedia; y las posiciones 125, 126, 127, 128 y 129 están expuestas. En algunas realizaciones, un residuo que se clasifica como "enterrado" comprende una sustitución, en relación con una CDR de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122, que es una sustitución conservativa que mantiene la carga y el tamaño aproximado para mantener la conformación del anticuerpo. En algunas realizaciones, un residuo clasificado como "expuesto" se sustituye, p. ej., con una sustitución conservativa o con un residuo que proporciona una unión mejorada a las células cancerosas en comparación con un anticuerpo parental de la Tabla 1A.

En algunas realizaciones, la HCDR3 de un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria tiene al menos un 60 % de identidad, al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, al menos un 85 %, al menos un 90 % de identidad o al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las secuencias de HCDR3 SEQ ID NO: 20-47. En algunas realizaciones, al menos dos, tres o los cuatro residuos de cisteína en una secuencia de HCDR3 como se describe en la presente memoria se conservan en una variante. En realizaciones adicionales, la HCDR3 tiene una longitud de al menos 27, 28, 29 o 30 aminoácidos. En realizaciones típicas, la HCDR3 tiene una longitud de 31 aminoácidos.

En algunas realizaciones, la región FR1 de una región V_H de un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR1 de las posiciones 1 a 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la región FR1 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 1 a 25 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122.

En algunas realizaciones, la región FR2 de una región V_H de un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria con al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la región FR2 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 36 a la 49 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122.

En algunas realizaciones, la región FR3 de una región V_H de un anticuerpo antitumoral de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la región FR3 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 69 a la 98 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122.

En algunas realizaciones, la región FR4 de una región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 130 a 140 de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122. En algunas realizaciones, la región FR4 comprende una sustitución en una o dos de las posiciones 130 a 140 con respecto a la secuencia correspondiente de una región V_H de una cualquiera de las SEQ ID NO: 77-122.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena pesada GFTFSKAWM(S/T). En algunas realizaciones, la CDR1 comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En realizaciones alternativas, la CDR1 comprende GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR1 comprende N en la posición 30, N en la posición 31; y/o Y en la posición 33. En algunas realizaciones, la CDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad con la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8).

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR2 de cadena pesada RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)T(D/E)YAAPVKG. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)TDYAAPVKG. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSTSDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia sustituida que tiene una o más de las siguientes posiciones: la posición 51 es V; la posición 54 es K o T; la posición 55 es S; la posición 56 es S; la posición 58 es G; la posición 59 es I; la posición 60 es K; o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia sustituida en donde la posición 51 es V; la posición 54 es V, K o T; la posición 55 es T, la posición 58 es E; la posición 59 es T; la posición 60 es K; y/o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, si la CDR2 comprende una secuencia en donde la posición 56 es S, la CDR1 comprende una W en la posición 33. En algunas realizaciones, la CDR2 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos 70% de identidad,

con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, con la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la secuencia de CDR2 tiene al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) o RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17).

- 5 En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende una secuencia de CDR3 de V_H T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)(Y/D)(K/N/S)(S/R)YYMDV. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una cualquiera de las secuencias de CDR3 que se muestran en la Tabla 2. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una secuencia de CDR3 como se muestra en la Tabla 2 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 9 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia de CDR3 de la Tabla 2. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR3 comprende V en la posición 99, T en la posición 100, R en la posición 108, D en la posición 111, R en la posición 112, Y en la posición 116 y/o S en la posición 120. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

- 15 T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNSYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

- 20 T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV.

- En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena pesada GFTFSKAWM(S/T). En algunas realizaciones, la CDR1 comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En realizaciones alternativas, la CDR1 comprende GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR1 comprende N en la posición 30, N en la posición 31; y/o Y en la posición 33. En algunas realizaciones, la CDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad con la secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1) o GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8).

- En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR2 de cadena pesada RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)T(D/E)YAAPVKG. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKS(V/T)(T/S)(D/E)G(E/G)(I/T)TDYAAPVKG. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la CDR2 comprende RIKSTSDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia sustituida que tiene una o más de las siguientes posiciones: la posición 51 es V; la posición 54 es K o T; la posición 55 es S; la posición 56 es S; la posición 58 es G; la posición 59 es I; la posición 60 es K; o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia sustituida en donde la posición 51 es V; la posición 54 es V, K o T; la posición 55 es T, la posición 58 es E; la posición 59 es T; la posición 60 es K; y/o la posición 61 es E. En algunas realizaciones, si la CDR2 comprende una secuencia en donde la posición 56 es S, la CDR1 comprende una W en la posición 33. En algunas realizaciones, la CDR2 tiene al menos un 60 % de identidad, o al menos 70% de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); o al menos un 60 % de identidad, o al menos un 70 % de identidad, con la secuencia RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la secuencia de CDR2 tiene al menos un 80 % de identidad, o al menos un 90 % de identidad, con la secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) o RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 17).

- En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende una secuencia de CDR3 de V_H T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)(Y/D)(K/N/S)(S/R)YYMDV. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una cualquiera de las secuencias de CDR3 que se muestran en la Tabla 2. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una secuencia de CDR3 como se muestra en la Tabla 2 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 9 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia de CDR3 de la Tabla 2. Por ejemplo, en algunas

realizaciones, la CDR3 comprende V en la posición 99, T en la posición 100, R en la posición 108, D en la posición 111, R en la posición 112, Y en la posición 116 y/o S en la posición 120. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

5 T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)YNSYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGG(R/S)CPS(H/R)DTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV. En algunas realizaciones, una CDR3 de V_H comprende una secuencia

10 T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YKSYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DSRYYYMDV,

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)YNRYYYMDV, o

T(S/T)SFCCRGGSCPSHDTS(Y/F)CGG(Q/S)DKRYYYMDV.

Regiones V_L

15 El anticuerpo de la invención está definido por las reivindicaciones.

Algunos anticuerpos antitumorales de la presente divulgación tienen una, dos o tres CDR de una secuencia d V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168 como se muestra en la Tabla 1A. En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo antitumoral tiene al menos una mutación y no más de 10, 20, 30, 40 o 50 mutaciones en las secuencias de aminoácidos de V_L en comparación con una secuencia de V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones o deleciones de aminoácidos en comparación con una secuencia de V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender una deleción o inserción, p. ej., una deleción o inserción de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 aminoácidos, en relación con una secuencia de CDR de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de V_L puede comprender una deleción o inserción de 1 aminoácido o 2 aminoácidos en relación con una secuencia de CDR de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una LCDR1 que tiene 1 o 2 sustituciones en relación con una secuencia de LCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58. En algunas realizaciones, una LCDR1 tiene 3, 4 o 5 sustituciones con respecto a una secuencia de CDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una CDR2 que tiene 1 o 2; o 1, 2 o 3; sustituciones relativas a la secuencia de LCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una CDR3 que tiene 1, 2 o 3; o 1, 2, 3 o 4; sustituciones con respecto a una secuencia de LCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 70 % de identidad con una CDR1, CDR2 y CDR3 con la CDR correspondiente de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo cada una al menos un 80 % de identidad con la correspondiente CDR1, CDR2 y CDR3 de un egión V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 en la Tabla 1A.

En algunas realizaciones, una región V_L de un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación tiene una exposición al disolvente de cada cadena lateral de CDR, en términos de Angstroms cuadrados, como se especifica en este párrafo, que se basa en una estructura de cristal de Fab de un anticuerpo ilustrativo. La clasificación como enterrado, intermedio o expuesto se basa en los valores de punto de corte de la siguiente manera: menos de aproximadamente 10 Å², aproximadamente 10-50 Å², o mayor de aproximadamente 50 Å², respectivamente. Las posiciones se determinan con referencia a una cualquiera de las secuencias de la región V_L de la SEQ ID NO: 123-168 proporcionadas en la Tabla 1A. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una región V_L del anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR1 en donde la posición 23 está expuesta; la posición 24 es intermedia; las posiciones 25 y 26 están expuestas; las posiciones 27 y 28 son intermedias; las posiciones 29, 30 y 31 están expuestas; las posiciones 32, 33 y 34 son intermedias; y la posición 35 queda expuesta. En algunas realizaciones, una V_L del anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR2 en donde las posiciones 51, 52, 53, 54, 55, 56 y 57 están expuestas. En algunas realizaciones, una V_L del anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una CDR3 en donde la posición 90 está expuesta; la posición 91 está enterrada, la posición 92 está expuesta; la posición 93 está

enterrada, las posiciones 94, 95, 96 y 97 están expuestas; la posición 99 es intermedia; y la posición 100 está expuesta. En algunas realizaciones, un residuo que se clasifica como "enterrado" comprende una sustitución, en relación con una CDR de una región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168, que es una sustitución conservativa que mantiene la carga y el tamaño aproximado para mantener la conformación del anticuerpo. En algunas realizaciones, un residuo clasificado como "expuesto" se sustituye, p. ej., con una sustitución conservativa o con un residuo que proporciona una unión mejorada a las células cancerosas en comparación con un anticuerpo parental de la Tabla 1A.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). En algunas realizaciones, 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 28 es Y o H. En algunas realizaciones, la posición 30 es E. En algunas realizaciones, la posición 32 es N. En algunas realizaciones, la posición 33 es Y o F. En algunas realizaciones, la posición 35 es D o E. En algunas realizaciones, la CDR1 tiene al menos un 60 % de identidad, al menos un 70 % de identidad, al menos un 80 % de identidad o al menos un 90 % de identidad con la secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48).

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR2 de cadena ligera (K/R)(N/D)(N/D)QRPS. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia de CDR2 como se muestra en la Tabla 1B. En algunas realizaciones, la CDR2 comprende una secuencia de CDR2 KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 51 es R, la posición 52 es D y/o la posición 53 es D. En algunas realizaciones, la secuencia fr CDR2 tiene al menos un 60 % o al menos un 70 % de identidad con la secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59).

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la divulgación comprende una secuencia de CDR3 de V_L STWD(D/E)SLSV(R/W)V. En algunas realizaciones, la secuencia de CDR3 comprende STWD(D/E)SLSVRV. En algunas realizaciones, la CDR3 comprende una secuencia de CDR3 como se muestra en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la secuencia de CDR3 comprende STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68) o STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73). En algunas realizaciones, 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68) o STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la posición 90 es A, la posición 91 es I y/o la posición 97 es G.

En algunas realizaciones, la región FR1 de una región V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a la 22 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la región FR1 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR1 de la posición 1 a la 22 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de las posiciones 1 a 22 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168.

En algunas realizaciones, la región FR2 de una región V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 50 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la región FR2 tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR2 de la posición 36 a la 50 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de las posiciones 36 a 50 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168.

En algunas realizaciones, la región FR3 de una región V_L de un anticuerpo antitumoral de la divulgación tiene al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 58 a la 89 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la región FR3 tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con la secuencia de FR3 de la posición 58 a la 89 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 58 a la 89 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168.

En algunas realizaciones, la región FR4 de una región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de la posición 101 a la 110 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, la región FR4 comprende una sustitución en una o dos de las posiciones 101 a 110 con respecto a la secuencia de una región V_L de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una región CDR1, CDR2 y/o una CDR3 de V_L como se describe en los párrafos anteriores es esta sección. En algunas realizaciones, una o dos de las secuencias de CDR de V_L comprenden una secuencia de CDR como se muestra en de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación comprende una región CDR1, CDR2 y/o una CDR3 de V_L como se describe en los párrafos anteriores en esta sección y tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos un 80 % de identidad, o al menos un 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las secuencias de V_L de las SEQ ID NO: 123-168. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de la región V_L de una cualquiera de las SEQ ID

NO: 123-168 y tiene al menos un 70 % de identidad, al menos un 75 % de identidad, al menos 80 un % de identidad, o al menos un 85 % de identidad, al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad con la correspondiente secuencia de la región V_L como se muestra en la Tabla 1A. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo designado como AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-104188, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-192482, AIP-122563 o AIP-171142 en la Tabla 1 y comprende al menos un 80 % o al menos un 90 % de identidad con la correspondiente secuencia de V_L mostrada en la Tabla 1A.

Anticuerpos ilustrativos

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo antitumoral que se une al tejido tumoral a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende CDR de cadena ligera y pesada de un anticuerpo de la Tabla 1 que tiene una designación AIP de AIP-101235, AIP-127782, AIP-189473, AIP-192571, AIP-125258, AIP-150199, AIP-115388, AIP-143369, AIP-157045, AIP-175775, AIP-154181, AIP-125984, AIP-160829, AIP-184744, AIP-128136, AIP-181273, AIP-153125, AIP-160470, AIP-192482, AIP-171142, AIP-157397, AIP-165430, AIP-189526, AIP-122563, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-104188, AIP-106042, AIP-100196, AIP-180675, AIP-170105, AIP-126080, AIP-161571, AIP-181246, AIP-192216, AIP-168605, AIP-172872, AIP-190051, AIP-167533, AIP-112580, AIP-136060, o una variante de los mismos como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia, una HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9-19, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67, o una variante de la misma en donde 1, 2 o 3 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; y una LCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76, o una variante de la misma en donde 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia. En algunas realizaciones, al menos 1 o 2 de las sustituciones son sustituciones conservativas. En algunas realizaciones, al menos el 50 % o al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de las sustituciones, en relación con la secuencia de CDR de referencia, son sustituciones conservativas.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una HCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos en relación con la secuencia, una HCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 9 -19, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una HCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 20-47 o una variante de la misma en donde 1, 2 o 3; o en donde 1 o 2; de los aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR1 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 48-58, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; una LCDR2 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-67, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia; y una LCDR3 de una cualquiera de las SEQ ID NO: 68-76, o una variante de la misma en donde 1 o 2 aminoácidos están sustituidos con respecto a la secuencia. En algunas realizaciones, al menos 1 o 2 de las sustituciones son sustituciones conservativas.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se une al tejido tumoral a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína, en donde el anticuerpo comprende: (a) una región variable de cadena pesada que comprende: (i) una HCDR1 que tiene la secuencia de GF(T/V)(F/Y)(S/A)_{X6}AWM(S/T) (SEQ ID NO: 1728), en donde _{X6} es K, A o M; (ii) una HCDR2 que tiene la secuencia de RIK(S/A)_{X5}_{X6}(D/E)(G/A)_{X9}_{X10}T(D/E)YAA(P/S)VKG (SEQ ID NO: 1729), en donde _{X5} es V, N, A o T; _{X6} es T, Q, S, D o H; _{X9} es E, H, K o G; y _{X10} es T, Q o I; y (iii) una HCDR3 que tiene la secuencia de (I/T)(S/T)SFCC(H/R)(G/S)_{X9}_{X10}CPSX₁₄(D/E)TS(F/Y)CX₂₀(G/N)_{X22}_{X23}_{X24}_{X25}(F/Y)Y(F/Y)(M/V)(D/N)_{X31} (SEQ ID NO: 1730), en donde _{X9} es A, G, K o N; _{X10} es N, Q, R o S; _{X14} es H, R o S; _{X20} es A, G o N; _{X22} es Q, S o Y; _{X23} es D, F, N o Y; _{X24} es A, K, N, P o S; _{X25} es D, Q, R o S; _{X31} es I, P o V; y (b) una región variable de cadena ligera que comprende: (i) una CDRL1 que tiene la secuencia de SG(S/A)_{X4}(S/T)(D/N)IGSSX₁₁VX₁₃ (SEQ ID NO: 1731), en donde _{X4} es S, P o K; _{X11} es S, Y o T; y _{X13} es S, Y o T; (ii) una CDRL2 que tiene la secuencia de (K/M)(D/N)_{X3}_{X4}R(A/P)_{X7} (SEQ ID NO: 1732), en donde _{X3} es S, N o T; _{X4} es L, Q o A; y _{X7} es Q, S, Y o L; y (iii) una CDRL3 que tiene la secuencia de (A/S)(S/T)W(D/N)_{X5}_{X6}(L/N)_{X8}(I/V)R(I/V) (SEQ ID NO: 1733), en donde _{X5} es E, D o N; _{X6} es S, A o Q; y _{X8} es N, S o T.

En algunas realizaciones, en la secuencia de HCDR1 del anticuerpo, la posición 3 de la HCDR1 es T; la posición 4 es F; la posición 5 es S; la posición 6 es K; y/o la posición 10 es S. En realizaciones particulares, la HCDR1 del anticuerpo tiene la secuencia de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1). En otras realizaciones, la HCDR1 del anticuerpo tiene una secuencia de una cualquiera de GFTFSAWMS (SEQ ID NO: 4), GFVFSKAWMS (SEQ ID NO: 7), GFTFAKAWMS (SEQ ID NO: 6), GFTYSKAWMS (SEQ ID NO: 5), GFTFSMAWMS (SEQ ID NO: 3), GFTYSAWMS (SEQ ID NO: 2) y GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8).

En algunas realizaciones, en la secuencia de HCDR2 del anticuerpo, la posición 4 de la HCDR2 es S; la posición 5 es V; la posición 6 es T; la posición 7 es D; la posición 8 es G; la posición 9 es E; la posición 10 es T; la posición 12 es

D; y/o la posición 16 es P. En realizaciones particulares, la HCDR2 del anticuerpo tiene la secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9). En otras realizaciones, la HCDR2 del anticuerpo tiene una secuencia de una cualquiera de

RIKSVTDGEQTDYAAPVKG (SEQ ID NO:18), RIKAADDGKQTDYAAPVKG (SEQ ID NO:19), RIKSVTDGETTEYAASVKG (SEQ ID NO:9), RIKAVHDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO:10), RIKSNTDAETTDYAAPVKG (SEQ ID NO:11), RIKSVQDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO:12), RIKSVTDGHTTDYAAPVKG (SEQ ID NO:13), RIKSVTDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO:14), RIKSTSDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO:15), RIKSTSDGGITDYAAPVKG (SEQ ID NO:16), o y RIKSVTEGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO:17).

- 5 En algunas realizaciones, en la secuencia de HCDR3 del anticuerpo, la posición 1 de la HCDR3 es T; la posición 2 es S; la posición 7 es R; la posición 8 es G; la posición 9 es G; la posición 10 es S; la posición 14 es H; la posición 15 es D; la posición 18 es Y; la posición 20 es G; y/o la posición 21 es G. En realizaciones particulares, la HCDR3 del anticuerpo tiene la secuencia de una cualquiera de TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGYYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 33), TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21), y
- 10 TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSFYMDV (SEQ ID NO: 28). En otras realizaciones, la HCDR3 del anticuerpo tiene la secuencia de una cualquiera de

TSSFCCRGGSCPSSDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:32),
 ISSFCCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:30),
 ISSFCCRGNSCPSSDTSYCNGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:29),
 ISSFCCRGNSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:27),
 ISSFCCHSNNPCSSDTSYCNGYYKQYYFMDV (SEQ ID NO:26),
 ISSFCCRGRKQCPSSDTSYCGGQFKSYYFMDV (SEQ ID NO:25),
 ISSFCCRGRKQCPSSDTSYCNGYYADYYFMDV (SEQ ID NO:24),
 TSSFCCRGNQCPSSDTSYCGGQYPSYYYMDP (SEQ ID NO:23),
 TTSFCCRGA SCPSSDTSYCAGSYKSYYFVNI (SEQ ID NO:22),
 TSSFCCRSGSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:20),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQDSRYYYMDV (SEQ ID NO:42),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCGGSYKSYYYMDV (SEQ ID NO:41),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:37),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQDSRYYYMDV (SEQ ID NO:40),
 TTSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:39),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO:34),
 TTSFCCRGGRCPSRDTSFCGGQYNSYYYMDV (SEQ ID NO:38),
 TSSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQYNRYYYYMDV (SEQ ID NO:36), y
 TTSFCCRGGSCPSHDTSFCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO:35).

En algunas realizaciones, en la secuencia de LCDR1 del anticuerpo, la posición 3 es S; la posición 4 es S; la posición 5 es S; la posición 6 es N; la posición 11 es S; y/o la posición 13 es S. En realizaciones particulares, la LCDR1 del anticuerpo tiene la secuencia de SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48). En otras realizaciones, la LCDR1 tiene la secuencia de una cualquiera de

SGSKSNIGSSSYVS (SEQ ID NO:50), SGSSSNIGSSSVY (SEQ ID NO:56),
 SGSKSNIGSSSVY (SEQ ID NO:55), SGSSTNIGSSSVS (SEQ ID NO:54),
 SGASSNIGSSSVS (SEQ ID NO:52), SGSSTNIGSSTVS (SEQ ID NO:53),
 SGSKSNIGSSSVS (SEQ ID NO:51), y SGSSTNIGSSSVT (SEQ ID NO:49).

En algunas realizaciones, en la secuencia de LCDR2 del anticuerpo, la posición 1 es K; la posición 2 es N; la posición 3 es N; la posición 4 es Q; la posición 6 es P; y/o la posición 7 es S. En realizaciones particulares, la LCDR2 tiene la secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59). En otras realizaciones, la LCDR2 tiene la secuencia de una cualquiera de KNNQRPY (SEQ ID NO: 66), KDNQRPS (SEQ ID NO: 62), KNTQRPS (SEQ ID NO: 65), KNNARPY (SEQ ID NO: 64), KNTQRAS (SEQ ID NO: 63), MNNQRPY (SEQ ID NO: 61) y KDNQRPL (SEQ ID NO: 60).

En algunas realizaciones, en la secuencia de LCDR3 del anticuerpo, la posición 1 de la LCDR3 es S; la posición 2 es T; la posición 4 es D; la posición 5 es D; la posición 6 es S; la posición 7 es L; la posición 8 es S; la posición 9 es V;

y/o la posición 11 es V. En realizaciones particulares, la LCDR3 del anticuerpo tiene la secuencia de STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En otras realizaciones, la LCDR3 tiene la secuencia de una cualquiera de STWDDALSVRV (SEQ ID NO: 72), SSWDDNSVRI (SEQ ID NO: 71), ATWDDQLSVRV (SEQ ID NO: 69), ATWDDSLTVRI (SEQ ID NO: 76), ATWDNSLSIRV (SEQ ID NO: 70), y STWDESLSVRV (SEQ ID NO: 73).

- 5 En los anticuerpos descritos en la presente memoria, la HCDR1 puede tener una secuencia de una cualquiera de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), GFTFSAAWMS (SEQ ID NO: 4) y GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8); la HCDR2 puede tener una secuencia de una cualquiera de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) y RIKSTSDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 15); la HCDR3 puede tener una secuencia de una cualquiera de

TSSFCCRGGSCPSSDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:32),

TSSFCCRSGSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:20),

TSSFCCRGNQCPSSDTSYCGGQYPSYYYMDP (SEQ ID NO:23),

ISSFCCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSYYFMDV (SEQ ID NO:30),

ISSFCCRGNSCPSSDTSYCNGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:27),

TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO:21), y

- 10 TSSFCCRGGSCPSHDTSCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO: 34); la LCDR1 puede tener una secuencia de una cualquiera de SGSSNIGSSSVY (SEQ ID NO: 56), SGSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), SGSSTNIGSSSVS (SEQ ID NO: 54) y SGSKSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 51); la LCDR2 puede tener una secuencia de una cualquiera de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59) y KDNQRPS (SEQ ID NO: 62); la LCDR3 puede tener una secuencia de una cualquiera de STWDDALSVRV (SEQ ID NO: 72), STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68), SSWDDNSVRI (SEQ ID NO: 71) y
- 15 ATWDNSLSIRV (SEQ ID NO: 70).

En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada de los anticuerpos descritos en la presente memoria puede tener una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de una cualquiera de

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT

DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSS

DTSYCGGQYKSYYFMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:92),

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT

DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRSGSCPSS

- 20 DTSYCNGQYKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:77),

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT

DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGNQCPSS

DTSYCGGQYPSYYYMDPWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:80),

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSAAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSTSD

GETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCISSFCCRGGSCPSRDT

SYCGGQYKSYYFMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:90),

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSAAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT

DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCISSFCCRGNSCPSSD

TSYCNGQYKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:86),

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSH
DTSYCGGQYKSYYYMDVWGKGTTVTSS (SEQ ID NO:94), y

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSVLYLQMSSLKTEDTAVYFCTSSFCCRGGSCPSH
DTSFCGGQDKRYYYMDVWGKGTTVTSS (SEQ ID NO:95).

En algunas realizaciones, la región variable de la cadena ligera de los anticuerpos descritos en la presente memoria puede tener una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) identidad con la secuencia de una cualquiera de

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDALSVRVFGGGTKLTVL (SEQ
ID NO:138),

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:140),

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSTNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDNSVRIFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:136),

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSKSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPSG
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDNSLSIRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:132), y

QSVLTQAPSASETGQRVIISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:141).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede comprender una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1); la HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de TSSFCCRGGSCPSDTSYCGGQYKSYFMDV (SEQ ID NO: 32); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSSNIGSSSVY (SEQ ID NO: 56); una LCDR2 que tiene una secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y una LCDR3 que tiene una secuencia de STWDDALSVRV (SEQ ID NO: 72). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSH
DTSYCGGQYKSYFMDVWGKGTTVTSS (SEQ ID NO: 92); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90% (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDALSVRVFGGGTKLTVL (SEQ
ID NO:138).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de TSSFCCRSGSCPSDTSYCNQYKSYYYMDV (SEQ ID

NO: 20); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48); una LCDR2 que tiene una secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y una LCDR3 que tiene una secuencia de STWDDSLSVRV (SEQ ID NO:68). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

5 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRSGSCPSS
DTSYCNQYKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 77); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90% (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV

PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID

10 NO:140).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVK (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de TSSFCRGNQCPSSDTSYCGGQYPSYYMDP (SEQ ID NO: 23); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48); una LCDR2 que tiene una secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y una LCDR3 que tiene una secuencia de STWDDSLSVRV (SEQ ID NO:68). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

15 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGNQCPSS
20 DTSYCGGQYPSYYMDPWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 80); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90% (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV

PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID

NO:140).

25 En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSAAWMS (SEQ ID NO: 4); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSTSDGETTDYAAPVK (SEQ ID NO: 15); una HCDR3 que tiene una secuencia de ISSFCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSYFMDV (SEQ ID NO: 30); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSTNIGSSSVS (SEQ ID NO: 54); una LCDR2 que tiene una secuencia de KDNQRPS (SEQ ID NO: 62); y una LCDR3 que tiene una secuencia de SSWDDNSVRI (SEQ ID NO:71). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

30 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSAAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSTSD
GETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCISSFCRGGSCPSRDT
SYCGGQYKSYFMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 90); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90% (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

35 QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSTNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPSGV

PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSSWDDNSVRIFGGGTKLTVL (SEQ ID

NO:136).

40 En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSAAWMS (SEQ ID NO: 4); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVK (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de ISSFCRGNQCPSSDTSYCNQYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 27); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSKSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 51); una LCDR2 que tiene una secuencia de KDNQRPS (SEQ ID NO: 62); una LCDR3 que tiene una secuencia de ATWDNSLSIRV (SEQ ID NO: 70). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

45 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSAAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCISSFCRGNQCPSSD

TSYCNGQYKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 86); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISC SGSKSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPSG
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDNSLSIRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:132).

- 5 En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48); una LCDR2 que tiene una secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y una LCDR3 que tiene una secuencia de STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCRGGSCPSH
15 DTSYCGGQYKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 94); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISC SGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO:140).

- 20 En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente memoria puede tener una HCDR1 que tiene una secuencia de GFTFSKAWMT (SEQ ID NO: 8); una HCDR2 que tiene una secuencia de RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); una HCDR3 que tiene una secuencia de TSSFCCRGGSCPSHDTSCGGQDKRYYYMDV (SEQ ID NO: 34); una LCDR1 que tiene una secuencia de SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48); una LCDR2 que tiene una secuencia de KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y una LCDR3 que tiene una secuencia de STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

- 25 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSVLYLQMSSLKTEDTAVYFCTSSFCRGGSCPSH
DTSFCGGQDKRYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 95); y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene una secuencia que tiene al menos un 90 % (p. ej., un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

QSVLTQAPSASETPGQRVIIISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
30 NO:141).

En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende una región V_H y V_L como se describe en la presente memoria, p. ej., un anticuerpo que tiene una región V_H y V_L como se muestra en la Tabla 1, o una variante de la misma, que además comprende una región constante de IgG1 humana y/o una región constante lambda humana. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena pesada

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

- NO: 1721), o una variante de la misma que tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 1721. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1721 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están mutados, p. ej., para modular la unión a FcR, la función efectora, la glicosilación y/o la estabilidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena ligera
- 5 GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETT
 KPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS (SEQ ID NO: 1722). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad, o más, con la SEQ ID NO: 1722.
- 10 En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo de la presente divulgación tiene una CDR1 que comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), una CDR2 que comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) y una CDR3 que comprende TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21); y una región V_L que tiene una CDR1 que comprende SGSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), una CDR2 que comprende KNNQRPS (SEQ ID NO: 59) y una CDR3 que comprende STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, dicho anticuerpo
- 15 comprende una IgG1 humana y/o una región constante lambda humana. En algunas realizaciones, la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 140. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena pesada

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

- NO: 1721), o una variante de la misma que tiene al menos un 90 % identidad con la SEQ ID NO: 1721. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1721 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están mutados, p. ej., para modular la unión a FcR, la función efectora, la glicosilación y/o la estabilidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena ligera
- 20 GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPE
 QWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS (SEQ ID NO: 1722). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad, o más, con la SEQ ID NO: 1722. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente divulgación comprende una secuencia de cadena pesada
- 25

EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSH
DTSYCGGQYKSYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:1723)

y una secuencia de cadena ligera

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVLGQPKAA
PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO:1724).

- 5 En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que comprende una región V_H y V_L como se describe en la presente memoria, p. ej., un anticuerpo que tiene una región V_H y V_L como se muestra en la Tabla 1A, o una variante de la misma, que además comprende una región constante de IgG1 humana y/o una región constante lambda humana. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena pesada

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
10 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

NO: 1721), o una variante de la misma que tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 1721. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1721 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están mutados, p. ej., para modular la unión a FcR, la función efectora, la glicosilación y/o la estabilidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena ligera

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETT

- 15 KPSKQSNKYNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID

NO: 1722). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad, o más, con la SEQ ID NO: 1722.

- En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo de la presente divulgación tiene una CDR1 que comprende GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), una CDR2 que comprende RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9) y una CDR3 que comprende TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21); y una región V_L que tiene una CDR1 que comprende SGSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), una CDR2 que comprende KNNQRPS (SEQ ID NO: 59) y una CDR3 que comprende STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68). En algunas realizaciones, dicho anticuerpo comprende una IgG1 humana y/o una región constante lambda humana. En algunas realizaciones, la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena pesada
- 20
- 25

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

NO: 1721), o una variante de la misma que tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 43. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43 en donde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos están mutados, p. ej., para modular la unión a FcR, la función efectora, la glicosilación y/o la estabilidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de cadena ligera

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETT
 KPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS (SEQ ID

NO: 1722). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad, o al menos un 95 % de identidad, o más, con la SEQ ID NO: 1722.

10 Actividad de Unión de Variantes

Actividad

Una variante de un anticuerpo que es útil para unirse al tejido tumoral a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína y/o para inducir una respuesta inmune, incluida una respuesta inmune antitumoral, puede identificarse usando una variedad de ensayos. En una realización preferida, la diana de unión de los anticuerpos de unión a tumor como se describen en la presente memoria está presente extracelularmente en las células tumorales cuando se cultivan *in vivo*, pero no presente extracelularmente para las células tumorales cultivadas en condiciones de cultivo estándar *in vitro*. Por lo tanto, los ensayos de unión para evaluar la actividad de las variantes se realizan en tejidos o células tumorales *ex vivo*, p. ej., en células tumorales que se cultivaron como un injerto tumoral en un ratón singénico (concordancia inmune) *in vivo* luego recogido y procesado dentro de las 24-48 horas. La unión se puede evaluar por cualquier número de medios, incluida la citometría de flujo. Sin embargo, en la presente solicitud, un anticuerpo de unión a tumor, cuando se proporciona en un formato que comprende una región Fc que se une a un FcγRIIIa, también tiene la capacidad de unirse a FcγRIIIa. En un ensayo, la actividad de unión de la variante se evalúa en un ensayo de unión al receptor Fc. A los efectos de las variantes de ensayo, la "unión" de un receptor de Fc se produce cuando un anticuerpo variante se une tanto a una célula tumoral diana a través de su región Fv como a un FcγR presente en una célula inmune a través de la región Fc del anticuerpo de tal manera que transduce una señal. Si la región Fc se mantiene constante entre las variantes que difieren en sus regiones Fv, entonces el ensayo permite una evaluación de la actividad de unión al tumor en dichas variantes en el contexto de la transducción de señal potencial a través de una región Fc particular que se une a un receptor Fc particular. En algunas realizaciones, la unión de la región Fc del anticuerpo puede dar como resultado la agrupación y/o la internalización del FcR, lo que da como resultado una señal de luminiscencia en las células que albergan una construcción informadora de NFAT-RE-Luciferasa.

En un ensayo preferido, la actividad de unión de un anticuerpo variante se evalúa usando células tumorales *ex-vivo* como se describe anteriormente en un ensayo de unión de FcγRIIIa. En ciertas realizaciones, la unión del anticuerpo tanto a su diana como a FcγR conduce a la generación de señales. En tal ensayo, se determinan los valores de CE₅₀ y, en algunas realizaciones, también se determina un valor de actividad delta, como se describe a continuación. En un ensayo ilustrativo, las variantes se pueden ensayar en un ensayo informador FcγRIIIa-H Promega. Otros ensayos también están disponibles, p. ej., BPS Bioscience proporciona un ensayo similar usando una línea celular informadora CD32a. Los ensayos alternativos incluyen el uso de una línea celular informadora CD16a y están disponibles en Promega o Invivogen.

El siguiente ensayo se usa preferiblemente para medir la actividad de unión de los anticuerpos que se unen específicamente a la diana expresada en el tumor y activan FcγRIIIa. Este ensayo, el ensayo FcγRIIIa-H ADCP, está disponible en Promega y emplea células Jurkat que expresan de manera estable FcγRIIIa-H humano (la variante H131 de alta afinidad) y luciferasa inducida por NFAT. Después de la unión de un FcγR en células efectoras Jurkat por la región Fc de un anticuerpo de ensayo que se une a una célula diana, se generan señales intracelulares en las células Jurkat que dan como resultado una actividad de luciferasa mediada por NFAT-RE, que se puede cuantificar. El ensayo usado para analizar las variantes se detalla en la sección "Metodología Detallada" a continuación. El ensayo se puede realizar como se detalla más adelante.

La actividad de unión se evalúa determinando los valores de CE₅₀, y en algunas realizaciones determinando adicionalmente la actividad delta, es decir, la diferencia en la actividad específica entre las mesetas inferior y superior

de la curva de activación expresada como porcentaje de actividad de un anticuerpo seleccionado que tiene una actividad *in vitro* conocida (ver también, el Ejemplo 8). En realizaciones típicas, los valores de CE_{50} se comparan con un anticuerpo de referencia. Para los fines de esta divulgación, un anticuerpo que comprende las regiones V_H y V_L de AIP-160470 y una región Fc de IgG2a de ratón cuando se ensaya la unión *ex vivo* usando un modelo de tumor de ratón, se emplea como anticuerpo de referencia y se incluye en un ensayo para evaluar la actividad de la variante en relación con el anticuerpo de referencia. Las veces sobre la CE_{50} se calculan dividiendo la CE_{50} del anticuerpo de referencia por la CE_{50} del anticuerpo de ensayo. Basándose en los valores resultantes, los anticuerpos se asignaron a grupos y se les dio una clasificación de 0-4 como sigue: 0 = (>500 nM); 1 = $<0,5$; 2 = 0,5 a 2; 3 = 2 a 4; 4 = >4 .

El protocolo para cada etapa se proporciona a continuación.

10 ***Inoculación y crecimiento de tumores EMT6 en ratones Balb/c in vivo***

1. Suspender las células EMT6 en los medios de Waymouth sin FBS para lograr 5×10^6 células/ml

a. 1 matraz de cultivo celular T225 producirá alrededor de $18-24 \times 10^6$ células viables

2. Mantener las células en hielo durante el resto del procedimiento

15 3. Anestesiarse ratones hembra BALB/c de 8 semanas de edad mediante inhalación de isoflurano. Usando una jeringa de 1 ml con aguja de 25G, inyectar 200 μ l de suspensión celular (1×10^6 células en total) por vía subcutánea en el flanco izquierdo afeitado de un ratón, asegurando que las células no se pierdan por reflujo hacia la jeringa o por fugas del sitio de inyección durante la inyección.

5. Comprobar los recuentos de células y la viabilidad después de realizar la inoculación.

a. Debería estar en una ventana del 10 %

20 6. Monitorizar el crecimiento del tumor usando calibradores

Recogida de tumores EMT6 y preparación del banco de células ex vivo

1. Recoger los tumores una vez que alcancen 500 - 800 mm³ medido con calibradores

2. Retirar toda la piel y los músculos circundantes.

3. Transferir los tumores a medios RPMI en hielo que contienen Primocina a una dilución de 1/500 (100 μ g/mL)

25 4. (Los tumores se pueden agrupar y los volúmenes aumentar de escala proporcionalmente)

5. Preparar mezcla de digestión tumoral (por 1 tumor)

a. 3,3 ml de HBSS con Ca^{2+} Mg^{2+}

b. 33 μ l de colagenasa A (concentración final: 0,2 mg/ml)

c. 33 μ l de Dispasa II (concentración final: 0,8 mg/ml)

30 d. 17 μ l de ADNasa (concentración final: 0,02 mg/ml)

e. 6,6 μ l de Primocina

f. Mezclar y filtrar a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,22 micrómetros para esterilizar

6. Recuperar tumores de RPMI. Cortar los tumores en trozos pequeños y añadir 1 ml de mezcla de digestión por tumor

35 7. Incubar en cualquier tubo FACS con tapa, tubo con tapa de rosca de 15 o 50 ml a 37 °C en rotación continua durante 15 min

8. Permitir que las células se asienten durante 30 segundos.

9. Retirar con cuidado el sobrenadante con una pipeta de 1 ml y añadirlo a 3 ml de FBS puro en hielo, que contiene Primocina a una concentración de 100 μ g/mL

10. Añadir otro 1 ml de mezcla de digestión y repetir 2 veces para un total de 3 veces

40 11. (se puede cortar la parte superior de una punta de pipeta de 1 ml y usarla para la disociación mecánica entre las etapas de digestión)

12. Después de la última digestión, la suspensión celular debe pasar a través de una punta de micropipeta de 1 ml.

13. Filtrar las células recogidas en FBS a través de un filtro de células de 100 micrómetros en un tubo nuevo de 50 ml
14. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 10min
15. Retirar el sobrenadante y resuspender las células en 1 ml de FBS puro (con Primocina a 100 µg/mL)
16. Contar y ajustar las células a 6×10^6 células/ml con FBS (con Primocina a 100 µg/mL)
- 5 a. Debido a los restos, los recuentos de células con Countess II o un hemocitómetro pueden ser inexactos
 - i. Se recomienda la tinción de células nucleadas con Draq5 1:1.000 (concentración madre de 5mM) y el recuento en un citómetro de flujo en el canal APC.
 - ii. La adición de DAPI a 1:1.000 permite la selección de células vivas de la población nucleada (se requiere láser violeta)
- 10 1. Preparar la solución de tinción añadiendo 1 µl de Draq5 (preparación madre 5 mM) y 1 µl de DAPI a 1 ml de PBS
 2. Añadir 40 µl de solución de tinción a un pocillo de 96 de fondo redondo
 3. Añadir 10 µl de suspensión celular y mezclar bien
 4. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente en la oscuridad.
 5. Analizar muestra por flujo
- 15 a. Separar en Draq5 (canal APC) células positivas primero
 - b. Determinar las células negativas de DAPI (canal BV421) dentro de la población positiva de Draq5
6. Si el citómetro de flujo puede medir eventos/µl, se puede calcular el número de células directamente (Cytflex puede hacerlo)
7. Si el citómetro de flujo no puede medir eventos/µl (como la mayoría de los instrumentos de BD), se deberá añadir perlas de recuento para obtener recuentos de células.
- 20 b. La viabilidad debe estar por encima del 75 %
 17. Resuspender las células a 4×10^6 células/ml con FBS (con Primocina a 100 µg/mL)
 18. Añadir la misma cantidad de FBS que contiene DMSO al 20 % y 100 µg/mL de Primocina
 19. Mezclar bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo
- 25 20. Alícuotar 1ml (2×10^6 células) de la suspensión celular en criotubos y congelar a -80 °C
 - a. Número esperado de celdas $\sim 10 \times 10^6$ células/tumor
21. Transferir al almacenamiento de N2 líquido a largo plazo al día siguiente
 - a. Tomar 1 vial de muestra y descongelar según el protocolo "Descongelación de células ex vivo"
 - b. Controlar los recuentos de células
- 30 **Uso de células EMT6 ex vivo para ensayo de unión**

Descongelación de células *ex vivo*

 1. Descongelar un vial en el baño de agua a 37 °C
 2. Transferir el contenido del vial a un tubo cónico de 50ml
 3. Añadir 19 ml de RPMI + FBS al 2 % a las células gota a gota, mientras se agita la suspensión
- 35 4. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 5min
 5. Resuspender en 1 ml de PBS + FBS al 2 % + EDTA 2 mM
 6. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 5min
 7. Resuspender en 2 mL de tampón de ensayo (RPMI1640 + suero bajo en IgG al 4 %)

8. Resuspender en 1 ml de tampón de ensayo
9. Contar y ajustar las células a 0.5×10^6 células/ml en tampón de ensayo
 - a. Realizar el recuento de células como se describe en la Sección C; 16a
- Ensayo de unión a FcγRIIIa (kit Promega no. G9991)
- 5 1. Preparar diluciones en serie de anticuerpos en tampón de ensayo con un exceso de 1,5X.
 - a. Volumen de ensayo total de 75 µl
 - b. 10^{-6} M concentración de partida
 - c. diluciones logarítmicas en una curva de respuesta a la dosis de 6 puntos por triplicado
2. añadir 25 µl de la dilución de anticuerpos a una placa blanca de 96 pocillos de fondo plano.
- 10 a. usar solo los 60 pocillos internos
 - b. Rellenar los pocillos no usados con 75 µl de tampón de ensayo
3. Añadir 25 µl de células *ex vivo* a cada pocillo que contiene la dilución de anticuerpos
 - a. Golpear suavemente la placa para mezclar las células con el anticuerpo
4. Incubar durante 15 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 %.
- 15 5. Descongelar un vial de células efectoras FcγRIIIa-H (0,62 ml) (kit Promega 3G991) en el baño de agua a 37 °C.
 - a. Retirar el vial de 37 °C tan pronto como se descongele
6. Transferir el contenido del vial a un tubo cónico que contiene 5,3 ml de tampón de ensayo
7. Mezclar invirtiendo el tubo 4-5 veces
8. Contar y ajustar las células a $0,5 \times 10^6$ células/ml
- 20 a. Los recuentos de células se pueden realizar usando un contador de células regular o un hemocitómetro
9. Añadir 25 µl de las células efectoras FcγRIIIa-H a las células diana opsonizadas
 - a. Relación E:T de 1:1
10. Agitar suavemente las placas de un lado a otro para mezclar el contenido (75 µl de volumen total)
11. Incubar durante 5 horas a 37 °C, CO₂ al 5 %
- 25 12. Después de 5 horas, preparar la solución de Luciferasa Bio-Glo añadiendo la botella entera de tampón de ensayo Bio-Glo™ al sustrato del ensayo de luciferasa Bio-Glo (10 ml en total por kit).
13. retirar la placa del incubador
14. Añadir 75 µl de la mezcla Bio-Glo™ a cada pocillo de la reacción
15. Incubar a RT en la oscuridad durante 15 minutos
- 30 16. Medir la luminiscencia en un lector de placas adecuado
17. Representar las curvas y calcular los valores de CE50

Reactivos y Tampones

Medios completos de EMT6 (medios de crecimiento normal, NGM)

Medio MB 752/1 de Waymouth + L-glutamina 2 mM + suero fetal bovino (FBS) al 15 % + pen/estrep al 1 %

35 Tampón de ensayo

RPMI1640 + suero bovino fetal (FBS) bajo en IgG al 4 %

Colagenasa A (Sigma-Aldrich, no. 10103586001)

1. Añadir HBSS con Ca^{2+} Mg^{2+} para crear una solución madre de 50 mg/ml
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente
- 5 4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
5. Almacenar a -20 °C durante hasta un mes
6. Evitar repetir los ciclos de congelación/descongelación

Dispasa II (Sigma-Aldrich, no. D4693-1G)

- 10 1. Reconstituir 1 g de Dispasa II en 10 mL de agua de grado de biología molecular con acetato de sodio 10 mM (pH 7,5) y acetato de calcio 5 mM
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 60 min a temperatura ambiente
4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
5. Almacenar a 4 °C durante hasta un mes

ADNasa (Sigma-Aldrich, no. 4536282001)

1. Añadir HBSS con Ca^{2+} Mg^{2+} para crear una solución madre de 2 mg/ml
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente
4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
- 20 5. Almacenar a -20 °C durante hasta 7 días
6. Evitar repetir los ciclos de congelación/descongelación

Un anticuerpo también se puede ensayar para determinar la función antitumoral. *in vivo* usando un ensayo *in vivo* como se describe en la sección EJEMPLOS. Una variante de un anticuerpo como se describe en la presente memoria normalmente tiene al menos el 50 %, o al menos el 60 %, o el 70 %, o más, de la actividad antitumoral de un anticuerpo de referencia como se muestra en la Tabla 1 cuando se evalúa en las mismas condiciones de ensayo. para medir la actividad antitumoral *in vivo*. En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral presenta una actividad mejorada, es decir, actividad superior al 100 %, en comparación con el anticuerpo de referencia.

Diana de unión del anticuerpo

En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo antitumoral que se une al tejido tumoral. En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente invención se dirige a un complejo extracelular de ARN-proteína que comprende ARNm y comprende además una proteína de unión a ARNm. En realizaciones típicas, el anticuerpo de unión a tumor se une a través de una interacción de unión con un complejo extracelular de ARN-proteína. En algunas realizaciones, el complejo ARN-proteína comprende ARN poliadenilado. En algunas realizaciones, el complejo ARN-proteína comprende ARNm. Dicho complejo también puede comprender otros tipos de ARN, como ARN ribosómico y/o microARN y/o ARN no codificante largo. En algunas realizaciones, el complejo ARN-proteína comprende ARN poliadenilado y/o pre-ARNm. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une directamente a una proteína de unión a ARN presente en el complejo de proteína ARN. En otras realizaciones, el anticuerpo puede unirse a una proteína que interacciona con una proteína de unión a ARN. En otras realizaciones, la unión del anticuerpo a la proteína depende del ARN. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede unirse simultáneamente al ARN y a una proteína. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede unirse al ARN. En otras realizaciones, la unión del anticuerpo al ARN puede depender de una o más proteínas de unión al ARN unidas al ARN o depender de múltiples proteínas que se unen al ARN en un complejo proteico.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral proporcionado en la presente memoria se une a un complejo extracelular de ARN-proteína que comprende una, dos, tres o más proteínas mostradas en la Tabla 3. En algunas realizaciones, el complejo extracelular de ARN-proteína comprende un miembro de la familia de proteínas de unión a poliadenilato, como se describe más adelante. En algunas realizaciones, el complejo extracelular de ARN-proteína comprende un miembro de la familia de proteínas de unión a poliadenilato y proteínas adicionales, p. ej., una o más

proteínas mostradas en la Tabla 3. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a una proteína mostrada en la Tabla 3. En algunas realizaciones, la proteína es una proteína de unión a ARN tal como un miembro de la familia de proteínas de unión a poliadenilato, como se describe más adelante. En algunas realizaciones, el anticuerpo de unión a tumor proporcionado en la presente memoria se une a un complejo extracelular de ARN-proteína que comprende una o más proteínas seleccionadas entre las siguientes:

ABCF1, ACIN1, ACLY, ADAR, AGO1, AGO2, AGO3, AHNAK, ATP2A2, ATXN2, BAG2, BOP1, BUB3, CAD, CASC3, CDC5L, CELF1, CLTA, CNBP, COPA, CRNKL1, DARS, DDX17, DDX18, DDX21, DDX5, DDX54, DDX6, DHX15, DHX30, DHX36, DHX57, DHX9, DICER1, DKC1, DNTTIP2, EDC4, EEF1D, EEF2, EFTUD2, EIF2AK2, EIF2S1, EIF3D, EIF3E, EIF3I, EIF4A3, EIF4G1, EIF6, ELAVL1, EPRS, FAM120A, FBL, FMR1, FTSJ3, FUBP3, FUS, FXR1, FXR2, GAR1, GEMIN4, GNL3, GRSF1, GTPBP4, HEATR1, HIST1H1B, HIST1H1C, HIST1H3A, HNRNPA0, HNRNPA1, HNRNPA2B1, HNRNPA3, HNRNPAB, HNRNPC, HNRNPD, HNRNPDL, HNRNPF, HNRNPH1, HNRNPH3, HNRNPK, HNRNPL, HNRNPM, HNRNPR, HNRNPUL1, HNRNPUL2, IGF2BP1, IGF2BP2, IGF2BP3, ILF2, ILF3, KARS, KHDRBS1, LIRE1, LARP1, MAGOHB, MAK16, MAP1B, MATR3, MBNL1, MOV10, MRTO4, MVP, MYBBP1A, MYO1B, NAT10, NCL, NHP2, NIFK, NKRF, NOL11, NOL6, NOP2, NOP56, NOP58, PABPC1, PABPC4, PCBP2, PDCD11, PES1, PGD, PLEC, PPP1CB, PRKDC, PRKRA, PRPF19, PRPF4B, PRPF8, PRRC2C, PTBP1, PTBP3, PUM1, PURA, PURB, PWP1, PWP2, RAB14, RAB2A, RACK1, RALY, RAN, RBM14, RBM34, RBM4, RBM45, RBM8A, RBMX, RCC2, RPL10A, RPL11, RPL12, RPL13A, RPL14, RPL15, RPL17, RPL18, RPL18A, RPL19, RPL21, RPL22, RPL23, RPL23A, RPL24, RPL26, RPL27, RPL29, RPL3, RPL30, RPL32, RPL34, RPL35A, RPL36, RPL4, RPL5, RPL6, RPL7, RPL7A, RPL8, RPLP0, RPLP1, RPLP2, RPS11, RPS13, RPS17, RPS23, RPS24, RPS26, RPS27A, RPS3, RPS3A, RPS5, RPS6, RPS8, RPS9, RPSA, RRBP1, RRP1, RRP9, RRS1, RSL1D1, RTCB, RUVBL2, RYDEN, SART3, SF3B3, SKIV2L2, SLC3A2, SND1, SNRNP200, SNRNP70, SNRPB, SNRPD1, SNRPD2, SNRPD3, SON, SRP68, SRP72, SRPK1, SRPK2, SRRM2, SRSF1, SRSF10, SRSF2, SRSF3, SRSF6, SRSF7, SRSF9, SSB, STAU1, STAU2, STRAP, SYNCRIP, TARBP2, TARDBP, TCOF1, TCP1, THOC2, THOC6, TNRC6A, TOP1, TRA2A, TRA2B, TRIM25, TRIM56, TTN, U2AF2, UGDH, UPF1, UTP15, UTP18, UTP4, UTP6, WDR12, WDR36, WDR43, WDR46, WDR74, WDR75, XAB2, XRCC5, XRN2, YBX1, YBX3, YTHDC2, ZC3H7A, ZC3HAV1, ZCCHC3, y ZNF326.

En algunas realizaciones, el miembro de la familia de proteínas de unión a poliadenilato es la "proteína 1 de unión a poliadenilato", también denominada "proteína 1 de unión a poli(A)", (PABP-1) y ARN, p. ej., ARN que contiene poli(A). PABP-1 se asocia con la cola 3' poli(A) del ARNm y está muy conservada entre los organismos eucariotas. PABP-1 está codificada por el gen de la proteína de unión a poli(A) citoplasmática 1 (PABPC1) (véase, p. ej., la secuencia del gen de PABPC1 humana disponible bajo la Ref. de Secuencia de NCBI NM_002568.4). Para los fines de la presente divulgación, "PABPC1" se usa de manera intercambiable con "PABP-1" para referirse al polipéptido. La información de la secuencia del polipéptido PABPC1 humano está disponible con el número de acceso P11940 de UniProtKB. Se han descrito dos isoformas producidas por corte y empalme alternativo. La isoforma 1 se considera la secuencia canónica y tiene una longitud de 636 aminoácidos (véase, p. ej., la Ref. de Secuencia de NCBI NP_002559.2). La isoforma 2 difiere de la secuencia canónica en que faltan los aminoácidos 447-553. Un "polipéptido PABPC1 humano"

tal y como se usa en la presente memoria incluye cualquier polipéptido PABPC1 codificado por un gen PABPC1 humano, que está localizado en el cromosoma humano 8q22.2-q23.

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN, PABPC1 y/o proteínas de unión a ARN adicionales para incitar una respuesta inmune y/o una respuesta antitumoral. Los ejemplos ilustrativos de proteínas de unión a ARN adicionales que pueden estar contenidas en dichos complejos incluyen miembros de la familia PABP, como PABP-4 (también denominada PABPC4). En algunas realizaciones, el complejo puede comprender una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en las proteínas enumeradas en la Tabla 3. En algunas realizaciones, la una o más proteínas son proteínas de unión a ARN.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC1, o ARN y PABPC1 y/o proteínas de unión a ARN adicionales es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, que es una configuración grande y desordenada de RNP desnaturalizados que forman asociaciones no específicas entre sí y ARN para formar un gran ensamblaje que se separa en fases para formar gotitas distinguibles (véase, p. ej., Hyman *et al.*, *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* 30:39-58, 2014). Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC1 a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPC1.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC1, o ARN y PABPC1 y/o proteínas de unión a ARN adicionales es un componente de un condensado biomolecular. Los condensados biomoleculares son compartimentos bidimensionales y tridimensionales que concentran colecciones específicas de moléculas distintas sin una membrana encapsulante (Ditlev *et al.*, *J. Mol. Biol.* 430: 4666-4684, 2018; Mullard, *Nature Reviews* 18:325, 2019). Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC1 a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC1.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC1, o ARN y PABPC1 y/o proteínas de unión a ARN adicionales es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Un "gránulo de estrés", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un ensamblaje o gránulo no unido a la membrana, típicamente formado en el citoplasma, que aumenta después del estrés. En algunos casos, los gránulos de estrés se forman cuando las células interrumpen la síntesis general de proteínas en respuesta al estrés, p. ej., inhibiendo la traducción y liberando ARNm de polisomas desensamblados en focos citoplasmáticos discretos. Los gránulos de estrés pueden comprender ribonucleoproteínas mensajeras (RNPM), incluidos ARNm, subunidades ribosómicas pequeñas 40S, complejos de inhibición de la traducción asociados con ARNm y proteínas de unión a ARN. Estas proteínas de gránulos de estrés pueden determinar el destino de transcritos específicos que entran y salen del gránulo de estrés, y también modulan varias cascadas de señalización en células estresadas. PABPC1 es una de las proteínas que se han identificado en los gránulos de estrés (Aulas *et al.*, *J. of Cell Science*, 130: 927-937, 2017). Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC1 a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPC1.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-PABPC1 comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 3. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden una o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-PABPC1 comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-PABPC1 comprende además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer de testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

En algunas realizaciones, se encuentra extracelularmente un complejo que comprende ARN y PABPC1, o ARN y PABPC1 y/o proteínas de unión a ARN adicionales, p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPC1 está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC1 a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-PABPC1. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un ser humano.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo, p. ej., que tiene actividad antitumoral, que se dirige a un complejo de ARN-proteína que comprende una proteína de unión a poli(A+) (PABP) estrechamente relacionada con PABPC1. Tales proteínas de unión a ARN se describen, p. ej., en Eliseeva *et al.*, *Biochemistry* 78:1377-1391, 2013. Estas incluyen seis proteínas de unión a poli(A+) humanas, que se pueden agrupar de la siguiente manera: citoplasmáticas (PABPC3, PABPC4, PABPC4L (y PABPC1)), embrionarias (ePABP, también denominadas PABPC1L), nucleares (PABPN1) y la proteína codificada por cromosoma X PABPC5. El gen que codifica ePABP (también llamada PABPC1L) está en el cromosoma 20 humano. La proteína PABPC1L tiene aproximadamente un

98 % de homología con PABPC1. El gen que codifica PABPC3 está localizado en 13q12-q13. La proteína PABPC3 (631 aminoácidos) tiene aproximadamente un 100 % de homología con la proteína PABPC1 (636 aminoácidos). El gen que codifica PABPC4 (hay tres isoformas conocidas) está localizado en 1p34.2. Las tres isoformas de PABPC4 tienen aproximadamente un 99 % de homología con PABPC1. El gen que codifica PABPC4L está localizado en 4q28.3. La proteína PABPC4L tiene aproximadamente un 63 % de homología con PABPC1. El gen que codifica PABPN1 está localizado en 14q11.2. La proteína PABPN1 tiene aproximadamente un 30 % de homología con PABPC1. El gen que codifica PABPC5 está localizado en Xq21.3. La proteína PABPC5 tiene aproximadamente un 61 % de homología con PABPC1. La estructura de dominio de estas proteínas comprende uno o más restos de reconocimiento de ARN. Las PABP citoplasmáticas tienen cuatro de estos dominios, típicamente en la región N-terminal. La región C-terminal de PABPC1, PABPC1L, PABPC3 y PABPC4 contiene un dominio helicoidal compuesto por cinco hélices α . La proteína nuclear PABPN1 tiene solo un resto de reconocimiento de ARN.

Complejos ARN-PABPC4

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN y PABPC4 para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4 a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPC4.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4, que además puede comprender proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4 a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4 a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPC4.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4 comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden una o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC4 comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC4 comprenden además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer-testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales se encuentra extracelularmente, p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPC4 está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4 a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un ser humano.

Complejos ARN-PABPC3

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN y PABPC3 para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC3 a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPC3.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC3, que además puede comprender proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC3 a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC3.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC3, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo

de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC3 a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPC3.

5 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC3 comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden uno o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

10 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC3 comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC3 comprenden además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer-testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

15 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC3, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, se encuentra extracelularmente p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPC3 está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC3 a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-PABPC3. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un ser humano.

20 *Complejos ARN-PABPC4L*

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN y PABPC4L para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4L a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPC4L.

25 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4L, que además puede comprender proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4L a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4L.

30 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4L, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4L a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPC4L.

35 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4L comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden uno o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

40 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC4L comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

45 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPC4L comprenden además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer-testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

50 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC4L, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, se encuentra extracelularmente p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPC4L está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC4L a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-PABPC4L. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un humano.

Complejos ARN-ePABP

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que

comprende ARN y ePABP para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ePABP a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana de ARN-ePABP.

5 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y ePABP, que además puede comprender proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ePABP a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-ePABP.

10 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y ePABP, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ePABP a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana de ARN-ePABP.

15 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-ePABP comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden una o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

20 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-ePABP comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-ePABP comprenden además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer-testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

25 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y ePABP, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, se encuentra extracelularmente, p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana de ARN-ePABP está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ePABP a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular
30 que comprende el complejo diana de ARN-ePABP. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un ser humano.

Complejos ARN-PABPN1

35 En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN y PABPN1 para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPN1 a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPN1.

40 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPN1, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPN1 a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPN1.

45 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPN1, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPN1 a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPN1.

50 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana de ARN-PABPN1 comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden uno o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPN1 comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

55 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el

condensado biomolecular que comprende un complejo diana de ARN-PABPN1 comprende además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer de testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

- 5 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPN1, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, se encuentra extracelularmente p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPN1 está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPN1 a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-ePABP. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un humano.

Complejos ARN-PABPC5

- 10 En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende ARN y PABPC5 para incitar una respuesta antitumoral. En algunas realizaciones, el complejo comprende proteínas de unión a ARN adicionales. En algunas realizaciones, el complejo es un componente de un condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC5 a un paciente que tiene un tumor que contiene gotitas de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN que comprenden el complejo diana ARN-PABPC5.

En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC5, que además puede comprender proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un condensado biomolecular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC5 a un paciente que tiene un tumor que contiene un condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC5.

- 20 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC5, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, es un componente de un gránulo de estrés o forma de otra forma un complejo con un gránulo de estrés. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC5 a un paciente que tiene un tumor que contiene gránulos de estrés que comprenden el complejo diana ARN-PABPC5.

- 25 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende el complejo diana ARN-PABPC5 comprende una o más proteínas seleccionadas de la Tabla 5. En algunas realizaciones, los gránulos de estrés comprenden uno o más proteínas de gránulos de estrés seleccionadas de proteínas en el grupo 1, 2, 3 o 4 en la Tabla 5.

- 30 En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana ARN-PABPC5 comprende además una o más proteínas oncofetales. Los ejemplos no limitativos de proteínas oncofetales incluyen IGF2BP1 e IGF2BP3.

En algunas realizaciones, la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, el gránulo de estrés y/o el condensado biomolecular que comprende un complejo diana ARN-PABPC5 comprende además un antígeno de cáncer, p. ej., un antígeno de cáncer de testículo. Un antígeno ejemplar de cáncer de testículo es IGF2BP2.

- 35 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y PABPC5, que puede comprender además proteínas de unión a ARN adicionales, se encuentra extracelularmente p. ej., la gotita de condensado de ribonucleoproteína (RNP)-ARN, gránulo y/o condensado biomolecular (como se ha descrito anteriormente) que contiene o se une al complejo diana ARN-PABPC5 está fuera de la célula. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se administra un anticuerpo que se dirige a un complejo que comprende PABPC5 a un paciente que tiene un tumor que tiene un complejo extracelular que comprende el complejo diana ARN-PABPC5. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero, p. ej., un ser humano.

Vacunas de ARN-PABP

- 45 En algunas realizaciones, un complejo que comprende ARN y una o más proteínas de unión a ARN, p. ej., PABP, p. ej., una o más de PABC1, PABPC3, PABPC4, PABC4L, ePABP, PABPN1 y/o PABPC5 se administra como componente de una vacuna contra el cáncer. En algunas realizaciones, dicho complejo se coadministra con un agente inmunomodulador, p. ej., un adyuvante. Los ejemplos de agentes inmoduladores incluyen, pero no se limitan a, citoquinas, factores de crecimiento, linfotoxinas, factor de necrosis tumoral (TNF), factores hematopoyéticos, interleuquinas (p. ej., interleuquina-1 (IL-1), IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, una IL-15/IL-15R α , p. ej., dominio sushi, complejo, IL-18 e IL-21), factores estimulantes de colonias (p. ej., factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), interferones (p. ej., interferón- α , β o γ), eritropoyetina y trombopoyetina, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el complejo se puede coadministrar con un adyuvante, tal como un agonista del receptor tipo Toll (TLR), un agonista del receptor de lectina tipo C (CLR), un agonista del receptor tipo I gen inducible por ácido retinoico (RLR), una saponina, un polisacárido como quitina, quitosano, β -glucano, un ISCOM, QS-21, un agonista del estimulador de genes de interferón (STING) u otro agente inmunopotenciador.

55

Formatos de anticuerpos

En un aspecto adicional de la invención, un anticuerpo antitumoral según la divulgación puede ser un fragmento de anticuerpo, p. ej., un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂. En otra realización, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud sustancialmente completa, p. ej., un anticuerpo IgG u otra clase o isotipo de anticuerpo como se define en la presente memoria. Para una revisión de ciertos fragmentos de anticuerpos, véase Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003). Los fragmentos de anticuerpos pueden prepararse mediante diversas técnicas, incluidas, pero no limitadas a, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción mediante células huésped recombinantes.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral según la presente invención que se administra a un paciente es una IgG de la subclase IgG1. En algunas realizaciones, dicho anticuerpo tiene una región constante de cadena ligera lambda.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral según la presente divulgación está en formato monovalente. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral está en formato de fragmento, p. ej., un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente divulgación comprende una región Fc que tiene una función efectora, p. ej., presenta citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). En algunas realizaciones, la región Fc puede ser una región Fc diseñada para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo, como la semivida en suero, la fijación del complemento, la unión al receptor Fc y/o ADCC. En consecuencia, una región Fc puede comprender mutaciones adicionales para aumentar o disminuir las funciones efectoras, es decir, la capacidad de inducir ciertas funciones biológicas al unirse a un receptor Fc expresado en una célula inmune. Las células inmunes incluyen, pero no se limitan a, monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, eosinófilos, mastocitos, plaquetas, células B, linfocitos granulares grandes, células de Langerhans, células asesinas naturales (NK) y células T citotóxicas.

Los ejemplos de funciones efectoras incluyen, pero no se limitan a, unión a C1q y CDC, unión al receptor Fc (p. ej., unión a FcγR), ADCC, fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP), regulación a la baja de los receptores de la superficie celular (p. ej., receptor de células B) y activación de células B. Las funciones efectoras pueden variar con la clase de anticuerpo. Por ejemplo, los anticuerpos IgG1 e IgG3 humanos nativos pueden incitar actividades ADCC y CDC al unirse a un receptor Fc apropiado presente en una célula del sistema inmune; y las IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanas nativas pueden incitar funciones de ADCP al unirse al receptor Fc apropiado presente en una célula inmune.

En algunas realizaciones, una región Fc descrita en la presente memoria puede incluir modificaciones adicionales que modulan la función efectora. Los ejemplos de mutaciones de aminoácidos de la región Fc que modulan una función efectora incluyen, pero no se limitan a, una o más sustituciones en las posiciones 228, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 243, 265, 269, 270, 297, 298, 318, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333 y 334 (esquema de numeración de EU) de una región Fc.

Las sustituciones ilustrativas que disminuyen las funciones efectoras incluyen las siguientes: la posición 329 puede tener una mutación en donde la prolina se sustituye por una glicina o arginina o un residuo de aminoácido lo suficientemente grande como para destruir la interfaz del receptor Fc/Fcγ que se forma entre la prolina 329 del Fc y los residuos de triptófano Trp 87 y Trp 110 de FcγRIII. Las sustituciones ilustrativas adicionales que disminuyen las funciones efectoras incluyen S228P, E233P, L235E, N297A, N297D y P331S. También pueden estar presentes múltiples sustituciones, p. ej., L234A y L235A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A y P329G de una región Fc de IgG1 humana; S228P y L235E de una región Fc de IgG4 humana; L234A y G237A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A y G237A de una región Fc de IgG1 humana; V234A y G237A de una región Fc de IgG2 humana; L235A, G237A y E318A de una región Fc de IgG4 humana; y S228P y L236E de una región Fc de IgG4 humana, para disminuir las funciones efectoras. Los ejemplos de sustituciones que aumentan las funciones efectoras incluyen, p. ej., E333A, K326W/E333S, S239D/I332E/G236A, S239D/A330L/I332E, F243L, G236A y S298A/E333A/K334A. Las descripciones de las mutaciones de aminoácidos en una región Fc que pueden aumentar o disminuir las funciones efectoras se pueden encontrar en, p. ej., Wang et al., Protein Cell. 9(1): 63-73, 2018; Saunders, Front Immunol. 7 de junio, colección electrónica, 2019; Kellner et al., Transfus Med Hemother. 44(5): 327-336, 2017; y Lo et al., J Biol Chem. 292(9):3900-3908, 2017.

En algunas realizaciones, una región Fc puede tener una o más sustituciones de aminoácidos que modulan ADCC, p. ej., sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc, según el esquema de numeración EU. Específicamente, S298A, E333A y K334A pueden introducirse en una región Fc para aumentar la afinidad de la región Fc por FcγRIIIa y disminuir la afinidad de la región Fc por FcγRIIIa y FcγRIIIb.

Una región Fc también puede comprender mutaciones adicionales para aumentar la semivida en suero. A través de la unión mejorada al receptor Fc neonatal (FcRn), tales mutaciones en una región Fc pueden mejorar la farmacocinética del anticuerpo. Los ejemplos de sustituciones en una región Fc que aumentan la semivida en suero de un anticuerpo incluyen, p. ej., M252Y/S254T/T256E, T250Q/M428L, N434A, N434H, T307A/E380A/N434A, M428L/N434S, M252Y/M428L, D259I/V308F, N434S, V308W, V308Y y V308F. Las descripciones de las mutaciones

de aminoácidos en una región Fc que pueden aumentar la semivida en suero de un anticuerpo se pueden encontrar en, p. ej., Dumet et al., MAbs. 26:1-10, 2019; Booth et al., MAbs. 10(7):1098-1110, 2018; y Dall'Acqua et al., J Biol Chem. 281(33):23514-24, 2006.

Además, en algunas realizaciones, un anticuerpo de la divulgación puede modificarse químicamente (p. ej., se pueden unir uno o más restos químicos al anticuerpo) o modificarse, p. ej., producido en líneas celulares y/o en condiciones de cultivo celular para alterar su glicosilación (p. ej., hipofucosilación, afucosilación o aumento de la sialilación), para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo se puede unir a uno de una variedad de polímeros, por ejemplo, polietilenglicol. En algunas realizaciones, un anticuerpo puede comprender mutaciones para facilitar la unión a un resto químico y/o para alterar residuos que están sujetos a modificaciones postraduccionales. p. ej., glicosilación.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación se emplea en un formato biespecífico o multiespecífico, p. ej., un formato trispecífico. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo puede incorporarse en un anticuerpo biespecífico o multiespecífico que comprende un dominio de unión adicional que se une al mismo antígeno o a uno diferente.

Los antígenos ilustrativos a los que puede dirigirse un dominio de unión adicional en un anticuerpo biespecífico o multiespecífico que comprende un dominio variable de cadena ligera y/o pesada de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, antígenos en células T para potenciar la unión de las células T y/o activar las células T. Los ejemplos ilustrativos de dicho antígeno incluyen, pero no se limitan a, CD3, CD2, CD4, CD5, CD6, CD8, CD28, CD40L, CD44, IL-15R α , CD122, CD132 o CD25. En algunas realizaciones, el antígeno es CD3. En algunas realizaciones, el antígeno está en una vía de activación de células T, tal como un antígeno 4-1BB/CD137, CD137L, OX40, OX40L, GITRL, GITR, CD27, CD70, CD28, ICOS, HVEM o LIGHT.

En algunas realizaciones, un anticuerpo biespecífico o multiespecífico que comprende una región variable de cadena pesada y/o ligera de la presente divulgación comprende además un dominio de unión que se une a un antígeno de punto de control, PD1, PDL1, CTLA-4, ICOS, PDL2, IDO1, IDO2, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, GITR, HAVCR2, LAG3, KIR, LAIR1, LIGHT, MARCO, OX-40, SLAMF, 2B4, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD70, CD80, CD86, CD137, CD160, CD39, VISTA, TIGIT, CGEN-15049, 2B4, CHK 1, CHK2, A2aR o un ligando de la familia B-7 o su receptor.

En algunas realizaciones, un anticuerpo biespecífico o multiespecífico que comprende una región variable de cadena pesada y/o ligera de la presente divulgación comprende además un dominio de unión que se dirige a un antígeno asociado a tumor. Los antígenos asociados a tumor ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, EpCAM, HER2/neu, HER3/neu, G250, CEA, MAGE, proteoglicanos, VEGF, VEGFREGFR, ErbB2, ErbB3, MET, IGF-1R, PSA, PSMA, EphA2, EphA3, EphA4, proteína de unión a folato α V β 3-integrina, integrina α 5 β 1 HLA, HLA-DR, ASC, CD1, CD2, CD4, CD6, CD7, CD8, CD11, CD13, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD37, CD40, CD41, CD47, CD52, c-erb-2, CALLA, MHCII, CD44v3, CD44v6, p97, gangliósido GM1, GM2, GM3, GD1 a, GD1 b, GD2, GD3, GT1 b, GT3, GQ1, NY-ESO-1, NFX2, SSX2, SSX4 Trp2, gp100, tirosinasa, Muc-1, telomerasa, survivina, SLAMF7 EphG250, p53, CA125 MUC, antígeno Wue, antígeno Lewis Y, HSP-27, HSP-70, HSP-72, HSP-90, Pgp, PMEL17, MCSP y dianas de la superficie celular GC182, GT468 o GT512.

En algunas realizaciones, las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación pueden incorporarse en una construcción de receptor de antígeno quimérico para generar una célula inmune que contiene CAR, como una célula T o una célula NK. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un CAR de primera generación se une a una región variable de cadena única del anticuerpo a un dominio de señalización intracelular CD3zeta (ζ) de un receptor de células T CD3 a través de dominios bisagra y transmembrana. En algunas realizaciones, el CAR puede contener dominios coestimulantes, p. ej., un CAR de segunda o tercera generación puede incluir uno o dos dominios coestimulantes adicionales, como 4-1BB, CD28 u OX-40). En realizaciones adicionales, una célula que contiene CAR, p. ej., una célula CAR-T, también puede diseñarse con un componente de expresión inducible como una citoquina, p. ej., IL-12 o IL-15 para aumentar la activación de las células CAR-T y también activar las células inmunes innatas.

Generación de anticuerpos

Los anticuerpos antitumorales que se divulgan en la presente memoria se producen comúnmente usando vectores y metodología recombinante bien conocida en la técnica (véase, p. ej., Sambrook y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology). Los proveedores comerciales ofrecen reactivos, vectores de clonación y kits para la manipulación genética. En consecuencia, en un aspecto adicional de la invención, se proporcionan en la presente memoria ácidos nucleicos aislados que codifican una región V_H y/o V_L, o fragmento de la misma, de cualquiera de los anticuerpos antitumorales como se describe en la presente memoria; vectores que comprenden tales ácidos nucleicos y células huésped en donde se introducen los ácidos nucleicos que se usan para replicar los ácidos nucleicos que codifican anticuerpos y/o para expresar los anticuerpos. Dichos ácidos nucleicos pueden codificar una secuencia de aminoácidos que contiene la V_L y/o una secuencia de aminoácidos que contiene la V_H del anticuerpo antitumoral (p. ej., las cadenas ligeras y/o pesadas del anticuerpo). En algunas realizaciones, la célula huésped contiene (1) un vector que contiene un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de V_L y un polinucleótido que codifica la secuencia de

aminoácidos de V_H , o (2) un primer vector que contiene un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de V_L y un segundo vector que contiene un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de V_H .

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para preparar un anticuerpo antitumoral de la invención. En algunas realizaciones, el método incluye cultivar una célula huésped como se describe en el párrafo anterior en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo se recupera posteriormente de la célula huésped (o del medio de cultivo de la célula huésped).

Los vectores adecuados que contienen polinucleótidos que codifican anticuerpos de la presente divulgación, o fragmentos de los mismos, incluyen vectores de clonación y vectores de expresión. Si bien el vector de clonación seleccionado puede variar según la célula huésped que se pretenda usar, los vectores de clonación útiles generalmente tienen la capacidad de autorreplicarse, pueden poseer una sola diana para una endonucleasa de restricción particular y/o pueden llevar genes para un marcador que puede usarse para seleccionar clones que contienen el vector. Los ejemplos incluyen plásmidos y virus bacterianos, p. ej., pUC18, pUC19, Bluescript (p. ej., pBS SK+) y sus derivados, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, plásmidos ColE1, pCR1, RP4, ADN de fago y vectores lanzadera. Estos y muchos otros vectores de clonación están disponibles de proveedores comerciales.

Los vectores de expresión generalmente son construcciones de polinucleótidos replicables que contienen un ácido nucleico de la presente divulgación. El vector de expresión puede replicarse en las células huésped como episomas o como parte integral del ADN cromosómico. Los vectores de expresión adecuados incluyen, pero no se limitan a, plásmidos y vectores virales, incluidos adenovirus, virus adenoasociados, retrovirus y cualquier otro vector.

Las células huésped adecuadas para expresar un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria incluyen tanto células procariotas como eucariotas. Por ejemplo, se puede producir un anticuerpo antitumoral en bacterias, en particular cuando no se necesita la glicosilación y la función efectora de Fc. Después de la expresión, el anticuerpo se puede aislar de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar más. Alternativamente, la célula huésped puede ser una célula huésped eucariota, incluidos los microorganismos eucariotas, como los hongos filamentosos o la levadura, incluidos los hongos y las cepas de levadura cuyas vías de glicosilación se han "humanizado", lo que da como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano, células de vertebrados, invertebrados y plantas. Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células de insecto. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus que pueden usarse junto con células de insectos. Los cultivos de células de plantas también se pueden utilizar como células huésped.

En algunas realizaciones, se usan células huésped de vertebrados para producir un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación. Por ejemplo, pueden usarse líneas celulares de mamíferos tales como una línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (293 o células 293 como se describe, p. ej., en Graham *et al.*, *J. Gen Virol.* 36:59,1977; células de riñón de cría de hámster (BHK); células de sertoli de ratón (células TM4 como se describe, p. ej., en Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980 células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA); células de riñón canino (MDCK); células de hígado de rata de búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumor mamario de ratón (MMT 060562); células TRI, como se describe, p. ej., en Mather *et al.*, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68, 1982; células MRC 5; y las células FS4 para expresar anticuerpos antitumorales. Otras líneas de células huésped de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluidas células CHO DHFR- (Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216, 1980); y líneas celulares de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Las células huésped de la presente divulgación también incluyen, sin limitación, células aisladas, células cultivadas *in vitro* y células cultivadas *ex vivo*. Para una revisión de ciertas líneas de células huésped de mamíferos adecuadas para la producción de anticuerpos, véase, p. ej., Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), p. 255-268, 2003.

En algunas realizaciones, un anticuerpo de la presente invención es producido por una línea de células CHO, p. ej., la línea celular CHO-K1. Se pueden introducir uno o más plásmidos de expresión que codifiquen secuencias de cadena ligera y pesada. Por ejemplo, en una realización, un plásmido de expresión que codifica una cadena pesada, p. ej., la SEQ ID NO: 1723, y un plásmido de expresión que codifica una cadena ligera, p. ej., la SEQ ID NO: 1724, se transfectan en células huésped como plásmidos linealizados en una relación de 1:1 en la línea de células huésped CHO-K1 usando reactivos como el reactivo Freestyle Max. La clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) junto con la imagenología de células individuales se puede usar como método de clonación para obtener una línea celular de producción.

Una célula huésped transfectada con un vector de expresión que codifica un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación, o un fragmento del mismo, puede cultivarse en condiciones apropiadas para permitir que se produzca la expresión del polipéptido. Los polipéptidos pueden secretarse y aislarse de una mezcla de células y medio que contiene los polipéptidos. Alternativamente, el polipéptido se puede retener en el citoplasma o en una fracción de membrana y las células se pueden recoger, lisar y el polipéptido se aísla usando un método deseado.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación se puede producir mediante síntesis *in vitro* (véase, p. ej., plataforma de síntesis bioquímica de proteínas de Sutro Biopharma).

En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un método para generar variantes de un anticuerpo antitumoral como se divulga en la presente memoria. Así, por ejemplo, una construcción que codifica una variante de una CDR3 de V_H como se describe en la presente memoria se puede modificar y la región V_H codificada por la construcción modificada puede analizarse para determinar la actividad de unión a las células EMT-6 y/o actividad antitumoral *in vivo* en el contexto de una región V_H como se describe en la presente memoria, que se empareja con una región V_L o región variante como se describe en la presente memoria. De manera similar, una construcción que codifica una variante de una CDR3 de V_L como se describe en la presente memoria se puede modificar y la región V_L codificada por la construcción modificada puede analizarse para determinar la unión a células EMT-6 u otras células tumorales y/o eficacia de la actividad antitumoral *in vivo*. Dicho análisis también se puede realizar con otras regiones CDR o marco y luego se puede seleccionar un anticuerpo que tenga la actividad deseada.

Conjugados de anticuerpos antitumorales/agentes coestimuladores

En un aspecto adicional, un anticuerpo antitumoral de la presente invención puede conjugarse o unirse a restos terapéuticos y/o de imagenología/detectables. Por ejemplo, el anticuerpo antitumoral puede conjugarse con un marcador detectable, un agente citotóxico, un agente inmunomodulador, un agente de imagenología, un agente terapéutico o un oligonucleótido. Los métodos para conjugar o unir anticuerpos a una molécula deseada son bien conocidos en la técnica. El resto puede unirse al anticuerpo de forma covalente o mediante enlaces no covalentes.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se conjuga con un resto citotóxico u otro resto que inhibe la proliferación celular. En algunas realizaciones, el anticuerpo se conjuga con un agente citotóxico que incluye, pero no se limita a, p. ej., cadena A de ricina, doxorubicina, daunorrubicina, un maitansinoide, taxol, bromuro de etidio, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, dihidroxiانترacindiona, metotrexato, actinomicina, una toxina diftérica, exotoxina A de *Pseudomonas*, imagenología 40 de *Pseudomonas*, abrina, cadena A de abrina, cadena A de modicina, alfa sarcina, gelonina, mitogelina, restrictocina, factor de veneno de cobra, una ribonucleasa, toxina Shiga modificada, fenomicina, enomicina, curicina, crotina, caliqueamicina, inhibidor de Saponaria officinalis, glucocorticoide, auristatina, auromicina, itrio, bismuto, combrestatina, duocarmicinas, dolastatina, cc1065 o un cisplatino. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede unirse a un agente como un inhibidor de enzimas, un inhibidor de la proliferación, un agente lítico, un inhibidor de la síntesis de ADN o ARN, un modificador de la permeabilidad de la membrana, un metabolito de ADN, un derivado de dicloroetilsulfuro, un inhibidor de la producción de proteínas, un inhibidor de ribosomas o un inductor de apoptosis. En algunas realizaciones, el anticuerpo se conjuga con un fármaco como un inhibidor de la topoisomerasa, p. ej., un inhibidor de la topoisomerasa I.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral de la invención se une a una molécula que facilita el transporte del anticuerpo a través de una membrana biológica, p. ej., mejorando la penetración de la membrana, facilitando la translocación de proteínas a través de las membranas. Así, por ejemplo, el anticuerpo puede unirse a un agente de penetración celular, tal como un péptido de penetración celular. Los ejemplos de péptidos de penetración celular incluyen TAT, penetratina, moléculas de poliarginina, péptidos derivados del dominio de Kunitz, p. ej., angiopep-2, SynB, buforina, transportano, péptidos anfipáticos y otros. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede conjugarse con una molécula catiónica como una poliamina. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede conjugarse con un agente que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica, p. ej., transcitos. Así, por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con un agente que se une a los receptores de las células endoteliales que se internalizan, p. ej., receptor de transferrina, receptor de insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina o un receptor de lipoproteínas de baja densidad, y similares. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede conjugarse con una toxina que facilita la entrada del anticuerpo en el citoplasma, p. ej., toxina Shiga.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral se conjuga o se coadministra con un agente inmunomodulador polipeptídico, p. ej., un adyuvante. Los ejemplos de agentes inmoduladores incluyen, pero no se limitan a, citoquinas, factores de crecimiento, linfotóxicas, factor de necrosis tumoral (TNF), factores hematopoyéticos, interleuquinas (p. ej., interleuquina-1 (IL-1), IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, una IL-15/IL-15R α , p. ej., dominio sushi, complejo, IL-18 e IL-21), factores estimulantes de colonias (p. ej., factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulante de colonias de monocitos y macrófagos (GM-CSF), interferones (p. ej., interferón- α , β o γ), eritropoyetina y trombopoyetina, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a o se coadministra con un adyuvante, como un agonista del receptor tipo Toll (TLR), un agonista del receptor de lectina tipo C (CLR), un agonista receptor tipo I del gen inducible por ácido retinoico (RLR), una saponina, un polisacárido como quitina, quitosano, β -glucano, un ISCOM, QS-21, un agonista del estimulador de genes de interferón (STING) u otro agente inmunopotenciador.

En algunas realizaciones, el anticuerpo puede unirse a un radionúclido, un compuesto relacionado con el hierro, un tinte, un agente fluorescente o un agente de imagenología. En algunas realizaciones, un anticuerpo puede unirse a agentes tales como, pero no limitados a, metales; quelantes de metales; lantánidos; quelantes de lantánidos; radiometales; quelantes de radiometales; núcleos emisores de positrones; microburbujas (para ultrasonido); liposomas; moléculas microencapsuladas en liposomas o nanoesferas; nanocompuestos de óxido de hierro monocristalino; agentes de contraste para imagenología por resonancia magnética; agentes que absorben, reflejan y/o dispersan la luz; partículas coloidales; fluoróforos, tales como fluoróforos del infrarrojo cercano.

Métodos para inducir una respuesta inmune

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporcionan métodos para inducir una respuesta inmune mediante la administración de un anticuerpo de unión a tumor como se describe en la presente memoria a un sujeto que tiene un tumor que comprende un complejo extracelular de ARN-proteína al que se une el anticuerpo de unión a tumor. En algunas realizaciones, el anticuerpo de unión a tumor es un anticuerpo mostrado en la Tabla 1 o la Tabla 2, o una variante del mismo como se describe anteriormente.

Una respuesta inmune inducida por la administración de un anticuerpo como se describe en la presente memoria puede ser una respuesta inmune innata o adaptativa. En algunas realizaciones, el anticuerpo activa directamente una respuesta inmune directamente, p. ej., mediante la unión del anticuerpo a una célula tumoral diana y la unión con un receptor Fc en una célula efectora de modo que la célula efectora se active. En algunas realizaciones, el anticuerpo activa indirectamente una respuesta inmune al inducir respuestas inmunes que se inician mediante la unión del anticuerpo a la célula diana y una célula efectora con la subsiguiente inducción de respuestas inmunes aguas abajo. En algunas realizaciones, el anticuerpo activa monocitos, células mieloides y/o células NK, p. ej., macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, mastocitos, basófilos, eosinófilos y/o células NK. En algunas realizaciones, el anticuerpo activa los linfocitos T y/o las células B.

Tratamiento del cáncer

En un aspecto adicional, un anticuerpo de unión a tumor como se proporciona en la presente memoria, p. ej., un anticuerpo mostrado en la Tabla 1 o una variante del mismo como se describió anteriormente, se puede usar y un agente terapéutico para tratar el cáncer. En algunos aspectos, la divulgación proporciona además métodos para identificar a sujetos que son candidatos para el tratamiento con un anticuerpo antitumoral que tiene efectos antitumorales. Por lo tanto, en una realización, la invención proporciona un método para identificar a un paciente que tiene células tumorales que se unen a un anticuerpo antitumoral de la presente divulgación. En algunas realizaciones, la muestra de tumor es de un tumor primario. En realizaciones alternativas, la muestra de tumor es una lesión metastásica. La unión del anticuerpo a las células tumorales a través de una interacción de unión con un complejo extracelular ARN-proteína puede medirse usando cualquier ensayo, como inmunohistoquímica o citometría de flujo. En algunas realizaciones, la unión del anticuerpo a al menos el 0,2 %, 0,5 % o 1 %, o al menos al 5 % o 10 %, o al menos al 20 %, 30 % o 50 % de las células tumorales en una muestra puede usarse como un criterio de selección para determinar un paciente para ser tratado con un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria. En otras realizaciones, el análisis de componentes de la sangre, p. ej., exosomas circulantes y/o complejo extracelular de ARN-proteína, se usa para identificar a un paciente cuyas células tumorales están generando un complejo extracelular de ARN-proteína.

Puede tratarse cualquier número de cánceres con un anticuerpo antitumoral de la presente invención. En algunas realizaciones, el cáncer es un carcinoma o un sarcoma. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer hematológico. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de testículo, cáncer de células renales, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer anal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer hepatocelular, cáncer de cabeza y cuello, un cáncer cerebral, p. ej., glioblastoma, melanoma o sarcoma óseo o de tejidos blandos. En una realización, el cáncer es melanoma acral. En algunas realizaciones, el cáncer es leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, astrocitoma, carcinoma de células basales, cáncer de las vías biliares, tumor óseo, glioma del tronco encefálico, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, glioma hipotalámico y de la vía visual, adenomas bronquiales, linfoma de Burkitt, linfoma del sistema nervioso central, astrocitoma cerebeloso, condrosarcoma, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, linfoma cutáneo de células T, tumor desmoplásico de células redondas pequeñas, cáncer de endometrio, ependimoma, hemangioendotelio epitelial (EHE), cáncer de esófago, sarcoma de Ewing, tumor extracraneal de células germinales, tumor extragonadal de células germinales, cáncer extrahepático de las vías biliares, un cáncer de ojo, melanoma intraocular, retinoblastoma, cáncer de vesícula biliar, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales, tumor trofoblástico gestacional, carcinoma gástrico, leucemia de células pilosas, carcinoma hepatocelular, linfoma de Hodgkin, cáncer de hipofaringe, glioma hipotalámico y de la vía visual, infantil, melanoma intraocular, carcinoma de células de los islotes, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de laringe, leucemias, cáncer de labio y cavidad oral, liposarcoma, cáncer de hígado, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, linfomas, macroglobulinemia, cáncer de mama masculino, histiocitoma fibroso maligno de hueso, meduloblastoma, cáncer de células de Merkel, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico, cáncer de boca, síndrome de neoplasia endocrina múltiple, mieloma múltiple, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena, leucemia mieloide, trastornos mieloproliferativos agudos del adulto, crónico, mixoma, cáncer de cavidad nasal y senos paranasales, carcinoma nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, oligodendroglioma, cáncer oral, cáncer de orofaringe, osteosarcoma, cáncer epitelial de ovario, tumor de células germinales de ovario, tumor de ovario de bajo potencial maligno, cáncer de seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, astrocitoma pineal, germinoma pineal, pineoblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, adenoma hipofisario, neoplasia de células plasmáticas, blastoma pleuropulmonar, linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de recto, carcinoma de células renales, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer

de glándulas salivales, sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma uterino, síndrome de Sézary, cáncer de piel no melanoma, melanoma, cáncer de intestino delgado, carcinoma de células escamosas, cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago, linfoma cutáneo de células T, cáncer de garganta, timoma, cáncer de tiroides, cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter, tumor trofoblástico, gestacional, cáncer de uretra, cáncer de útero, cáncer de vagina, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenström o tumor de Wilms.

En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón, p. ej., adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas o carcinoma de células escamosas; cáncer de mama, p. ej., Triple, ER/PR+Her2⁻, ER/PR+Her2⁺, o Triple⁻; cáncer colorrectal, p. ej., adenocarcinoma, adenocarcinoma mucinoso o adenocarcinoma papilar; cáncer de esófago; cáncer de estómago; cáncer de riñón, p. ej., cáncer de riñón de células claras; cáncer de ovarios, p. ej., carcinoma endometrioide de ovario, cistoadenocarcinoma mucinoso de ovario o cistadenocarcinoma seroso de ovario; melanoma, p. ej., melanoma acral, melanoma cutáneo o melanoma mucoso; cáncer uterino o de cuello uterino; cáncer de hígado, p. ej., carcinoma hepatocelular o carcinoma de vías biliares; cáncer de vejiga, p. ej., cáncer de vejiga transicional o urotelial; o cáncer testicular.

En un aspecto, los métodos de la divulgación comprenden administrar un anticuerpo antitumoral, p. ej., un anticuerpo mostrado en la Tabla 1 o una variante del mismo como se describe anteriormente, como una composición farmacéutica a un paciente con cáncer en una cantidad terapéuticamente efectiva usando un régimen de dosificación adecuado para el tratamiento del cáncer. La composición se puede formular para su uso en una variedad de sistemas de administración de fármacos. También se pueden incluir uno o más excipientes o vehículos fisiológicamente aceptables en las composiciones para una formulación adecuada. Las formulaciones adecuadas para usar en la presente invención se encuentran, p. ej., en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a Edición, Filadelfia, PA. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

El anticuerpo antitumoral se proporciona en una solución adecuada para la administración al paciente, como una solución acuosa isotónica estéril para inyección. El anticuerpo se disuelve o suspende a una concentración adecuada en un vehículo aceptable. En algunas realizaciones, el vehículo es acuoso, p. ej., agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato y similares. Las composiciones pueden contener sustancias farmacéuticas auxiliares según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes tamponadores y de ajuste del pH, agentes de ajuste de la tonicidad y similares.

Las composiciones farmacéuticas se administran a un paciente en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente la enfermedad o los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como una "dosis terapéuticamente efectiva". Una dosis terapéuticamente efectiva se determina monitorizando la respuesta del paciente a la terapia. Los puntos de referencia típicos indicativos de una dosis terapéuticamente efectiva incluyen la mejora de los síntomas de la enfermedad en el paciente. Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad y del estado general de salud del paciente, incluidos otros factores como la edad, el peso, el género, la ruta de administración, etc. Se pueden administrar administraciones únicas o múltiples del anticuerpo dependiendo de la dosificación y la frecuencia requeridas y toleradas por el paciente. En cualquier caso, los métodos proporcionan una cantidad suficiente de anticuerpos antitumorales para tratar efectivamente al paciente.

Un anticuerpo antitumoral puede administrarse por cualquier medio adecuado, incluyendo, por ejemplo, la administración parenteral, intrapulmonar e intranasal, así como la administración local, tal como la administración intratumoral. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede administrarse por insuflación. En una realización ilustrativa, el anticuerpo se puede almacenar a 10 mg/ml en solución salina acuosa isotónica estéril para inyección a 4 °C y se diluye en 100 ml o 200 ml de cloruro de sodio al 0,9 % para inyección antes de la administración al paciente. En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra por infusión intravenosa en el transcurso de 1 hora a una dosis de entre 0,01 y 25 mg/kg. En otras realizaciones, el anticuerpo se administra por infusión intravenosa durante un período de entre 15 minutos y 2 horas. En aún otras realizaciones, el procedimiento de administración es a través de una inyección en bolo subcutánea.

La dosis de anticuerpo se elige con el fin de proporcionar una terapia efectiva para el paciente y está en el rango de menos de 0,01 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal o en el rango de 1 mg - 2 g por paciente. Preferiblemente, la dosis está en el rango de 0,1 - 10 mg/kg o aproximadamente 50 mg - 1.000 mg/paciente. La dosis se puede repetir con una frecuencia apropiada que puede estar en el rango de una vez al día a una vez cada tres meses, o cada seis meses, dependiendo de la farmacocinética del anticuerpo (p. ej., la semivida del anticuerpo en la circulación) y la respuesta farmacodinámica (p. ej., la duración del efecto terapéutico del anticuerpo). En algunas realizaciones, la semivida *in vivo* de entre aproximadamente 7 y aproximadamente 25 días y la dosificación de anticuerpos se repite entre una vez a la semana y una vez cada 3 meses o una vez cada 6 meses. En otras realizaciones, el anticuerpo se administra aproximadamente una vez al mes.

En una realización ilustrativa, el anticuerpo puede almacenarse a 10 mg/ml o 20 mg/ml en una solución acuosa isotónica estéril. La solución puede comprender agentes tales como agentes tamponadores y agentes estabilizadores. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se incluye un agente tamponador como la histidina para mantener un pH de la formulación de aproximadamente 5,5. Se pueden añadir reactivos adicionales como sacarosa o alternativas para evitar

la agregación y fragmentación en solución y durante la congelación y descongelación. Se pueden incluir agentes como el polisorbato 80 o una alternativa para reducir la tensión superficial y estabilizar el anticuerpo frente a la desnaturalización inducida por agitación y la desnaturalización superficial aire-líquido y hielo-líquido. En algunas realizaciones, la solución para inyección se almacena a 4 °C y se diluye en 100 ml o 200 ml de cloruro de sodio al 0,9 % para inyección antes de la administración al paciente.

En algunas realizaciones, el anticuerpo para administración IV, p. ej., un anticuerpo que tiene una secuencia de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1723 y una secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO: 1724, se formula a una concentración diana de 20 mg/ml en tampón de histidina 20 mM, sacarosa al 8 % (p/v) y polisorbato 80 al 0,02 % (p/v), pH 5,5.

Un anticuerpo antitumoral puede administrarse con uno o más agentes terapéuticos adicionales, p. ej., radioterapia, agentes quimioterapéuticos y/o agentes inmunoterapéuticos.

En algunas realizaciones, se puede administrar un anticuerpo antitumoral junto con un agente que se dirige a un antígeno de punto de control inmune. En un aspecto, el agente es un agente terapéutico biológico o una molécula pequeña. En otro aspecto, el agente es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, una proteína de fusión o una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, los agentes inhiben, p. ej., al bloquear la unión del ligando al receptor, un antígeno de punto de control que puede ser PD1, PDL1, CTLA-4, ICOS, PDL2, IDO1, IDO2, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, GITR, HAVCR2, LAG3, KIR, LAIR1, LIGHT, MARCO, OX-40, SLAM, 2B4, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD70, CD80, CD86, CD137 (4-1BB), CD160, CD39, VISTA, TIGIT, un SIGLEC, CGEN-15049, 2B4, CHK1, CHK2, A2aR, ligandos de la familia B-7 o sus receptores, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el agente se dirige a PD-1, p. ej., un anticuerpo que bloquea la unión de PD-L1 a PD-1 o inhibe de otro modo a PD-1. En algunas realizaciones, el agente se dirige a CTLA-4. En algunas realizaciones, el agente se dirige a LAG3. En algunas realizaciones, el agente se dirige a TIM3. En algunas realizaciones, el agente se dirige a ICOS.

En algunas realizaciones, se puede administrar un anticuerpo antitumoral junto con un anticuerpo terapéutico, como un anticuerpo que se dirige a un antígeno de célula tumoral. Los ejemplos de anticuerpos terapéuticos incluyen rituximab, trastuzumab, tositumomab, ibritumomab, alemtuzumab, atezolizumab, avelumab, durvalumab, pidilizumab, AMP-224, AMP-514, PDR001, cemiplimab, BMS-936559, CK-301, epratuzumab, bevacizumab, elotuzumab, necitumumab, blinatumomab, brentuximab, cetuximab, daratumumab, denosumab, dinutuximab, gemtuzumab, ibritumomab, ipilimumab, nivolumab, obinutuzumab, ofatumumab, ado-trastuzumab, panitumumab, pembrolizumab, pertuzumab, ramucirumab y ranibizumab.

En algunas realizaciones, se administra un anticuerpo antitumoral con un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos contra el cáncer incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; sulfonatos de alquilo tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocuona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomicina, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptongrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo; análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitiostano, testolactona; antiparásitos tales como aminoglucetida, mitotano, trilostano; reponedor de ácido fólico tal como ácido folínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinán; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; razoxano; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazona; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido; ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, p. ej., paclitaxel y docetaxel; clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; docetaxel, platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilomitina (DMFO); derivados del ácido retinoico tales como bexaroteno, alitretinoína, denileuquina difitox; esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición los agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal sobre tumores tales como antiestrógenos que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, mifepristona, inhibidores de la aromatasa 4(5)-imidazoles, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY 117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables

de cualquiera de los anteriores. Los agentes terapéuticos contra el cáncer adicionales incluyen sorafenib y otros inhibidores de proteína quinasa tales como afatinib, axitinib, crizotinib, dasatinib, erlotinib, fostamatinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, mubritinib, nilotinib, pazopanib, pegaptanib, ruxolitinib, vandetanib, vemurafenib y sunitinib; sirolimus (rapamicina), everolimus y otros inhibidores de mTOR. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos adicionales incluyen inhibidores de la topoisomerasa I (p. ej., irinotecán, topotecán, camptotecina y análogos o metabolitos de los mismos, y doxorubicina); inhibidores de la topoisomerasa II (p. ej., etopósido, tenipósido y daunorrubicina); agentes alquilantes (p. ej., melfalán, clorambucilo, busulfán, tiotepa, ifosfamida, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, descabacina, metotrexato, mitomicina C y ciclofosfamida); intercaladores de ADN (p. ej., cisplatino, oxaliplatino y carboplatino); intercaladores de ADN y generadores de radicales libres tales como la bleomicina; y miméticos de nucleósidos (p. ej., 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, fludarabina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina e hidroxiurea). Los agentes quimioterapéuticos ilustrativos incluyen además paclitaxel, docetaxel y análogos relacionados; vincristina, vinblastina y análogos relacionados; talidomida, lenalidomida y análogos relacionados (p. ej., CC-5013 y CC-4047); e inhibidores de proteína tirosina quinasa (p. ej., mesilato de imatinib y gefitinib); inhibidores del proteasoma (p. ej., bortezomib); Inhibidores de NF- κ B, incluidos los inhibidores de la quinasa I κ B y otros inhibidores de proteínas o enzimas que se sabe que están reguladas al alza, sobreexpresadas o activadas en los cánceres, cuya inhibición regula a la baja la replicación celular. Los agentes adicionales incluyen asparaginasa y una preparación de *Bacillus Calmete-Guérin*.

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral como se describe en la presente memoria se administra después, o al mismo tiempo, que un agente terapéutico, p. ej., un agente quimioterapéutico, tal como doxorubicina, que induce gránulos de estrés ("agente inductor de SG"). El aumento de la cantidad de gránulos de estrés en las células cancerosas puede promover que el anticuerpo antitumoral se dirija a las células tumorales. Otros ejemplos de agentes terapéuticos que pueden inducir gránulos de estrés incluyen análogos de pirimidina (p. ej., 5-FU, bajo los nombres comerciales de Adrucil[®], Carac[®], Efudex[®], Efudix[®]); inhibidores de la proteasa (p. ej., Bortezomib, bajo el nombre comercial de Velcade[®]); inhibidores de quinasa (p. ej., Sorafenib e Imatinib, bajo los nombres comerciales de Nexavar[®] y Gleevec[®], respectivamente); compuestos de arsénico (p. ej., trióxido de arsénico, bajo el nombre comercial de Trisenox[®]); compuestos a base de platino que inducen daño en el ADN (p. ej., cisplatino y oxaliplatino[®], bajo los nombres comerciales de Platinol[®] y Eloxatina[®], respectivamente); agentes que interrumpen los microtúbulos (p. ej., vinblastina, bajo el nombre comercial de Velban[®] o alkabban-AQ[®]; vincristina, bajo el nombre comercial de Vincasar[®], Marqibo[®] u Oncovin[®]; vinorelbina, bajo el nombre comercial de Navelbin[®]); inhibidor de la topoisomerasa II (p. ej., etopósido, bajo el nombre comercial de Etopophos, Toposar[®], VePesid[®]); y agentes que inducen daños en el ADN, p. ej., irradiación. Una serie de ejemplos de agentes terapéuticos que pueden inducir la formación de gránulos de estrés se divulgan en Mahboubi *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta* 1863 (2017) 884-895.

Pueden emplearse diversas combinaciones con el anticuerpo antitumoral y el agente inductor de SG (o una combinación de dichos agentes) descritos en la presente memoria para tratar a un paciente con cáncer. Por "terapia de combinación" o "en combinación con", no se pretende implicar que los agentes terapéuticos deban administrarse al mismo tiempo y/o formularse para su administración conjunta, aunque estos métodos de administración están dentro del alcance descrito en la presente memoria. El anticuerpo antitumoral y el agente inductor de SG se pueden administrar siguiendo el mismo régimen de dosificación o uno diferente. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral y el agente inductor de SG se administran secuencialmente en cualquier orden durante la totalidad o parte del período de tratamiento. En algunas realizaciones, el anticuerpo antitumoral y el agente inductor de SG se administran simultáneamente o aproximadamente simultáneamente (p. ej., dentro de aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20 o 30 minutos entre sí). En aún otras realizaciones, el agente inductor de SG puede administrarse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más días antes de la administración del anticuerpo antitumoral. En algunas realizaciones, el agente inductor de SG se administra de 1 a 4 semanas, o más, antes de administrar el anticuerpo antitumoral.

También se puede administrar un anticuerpo antitumoral a un paciente con cáncer junto con una terapia basada en células, como la terapia con células asesinas naturales (NK) o una vacuna contra el cáncer. En algunos casos, una vacuna contra el cáncer es una vacuna basada en péptidos, una vacuna basada en ácidos nucleicos, una vacuna basada en células, una vacuna basada en virus o basada en fragmentos virales o una vacuna basada en células presentadoras de antígenos (APC) (p. ej., vacuna basada en células dendríticas). Las vacunas contra el cáncer incluyen Gardasil[®], Cervarix[®], sipuleucel-T (Provenge[®]), NeuVax[™], vacuna basada en péptido HER-2 ICD, vacuna de péptido HER-2/neu, vacuna de células dendríticas AdHER2/neu, vacuna DC1 pulsada HER-2, vacuna de proteína de fusión Ad-sig-hMUC-I/ecdCD40L, MVX-ONCO-1, vacuna multipéptido hTERT/survivina/CMV, E39, J65, P10s-PADRE, rV-CEA-Tricom, GVAX[®], Lucanix[®], HER2 VRP, AVX901, ONT-10, ISAI01, ADXSI 1-001, VGX-3100, INO-9012, GSK1437173A, BPX-501, AGS-003, IDC-G305, inmunoterapia HyperAcute[®]-Renal (HAR), Prevenar13, MAGER-3.A1, NA17.A2, DCVax-Direct, vacuna de células dendríticas cargada con proteína de membrana latente 2 (LMP2) (NCT02115126), HS410-101 (NCT02010203, Heat Biologies), EAU RF 2010-01 (NCT01435356, GSK), 140036 (NCT02015104, Rutgers Cancer Institute of New Jersey), 130016 (NCT01730118, National Cancer Institute), MVX-201101 (NCT02193503, Maxivax SA), ITL-007-ATCR-MBC (NCT01741038, Immunovative Therapies, Limited), CDR0000644921 (NCT00923143, Abramson cancer center of the University of Pennsylvania), SuMo-Sec-01 (NCT00108875, Julius Maximilians Universitaet Hospital), o MCC-15651 (NCT01176474, Medarex, Inc, BMS).

En algunas realizaciones, un anticuerpo antitumoral para uso médico de la presente invención se puede administrar con un agente, p. ej., un corticosteroide, que mitiga los efectos secundarios resultantes de la estimulación del sistema inmune.

En el contexto de la presente invención, un agente terapéutico que se administra junto con un anticuerpo antitumoral de la presente invención puede administrarse antes de las administraciones del anticuerpo antitumoral o después de la administración del anticuerpo antitumoral. En algunas realizaciones, se puede administrar un anticuerpo antitumoral al mismo tiempo que el agente terapéutico adicional.

- 5 Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos y no para limitar el alcance de las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1. Identificación de variantes de anticuerpos que tienen efectos antitumorales.

Se obtuvo una secuencia de anticuerpo líder inicial, designada como AIP-192482, mediante la secuenciación de un plasmablasto de un paciente que tenía cáncer de pulmón de células no pequeñas que se identificó en un cribado de modelo tumoral *in vivo* en combinación con terapia de anticuerpos anti-PD1.

Se empleó un modelo de tumor ectópico EMT6 en el cribado inicial. A ratones Balb/c se les inyectaron por vía subcutánea a lo largo del flanco derecho 10^6 células EMT6. La actividad antitumoral de un anticuerpo inicial del linaje se evaluó adicionalmente en el modelo de cáncer de mama ectópico singénico EMT6 en ratones Balb/c. Los ratones se aleatorizaron en grupos de tratamiento según el volumen tumoral (TV) una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 75-120 mm³. El tratamiento con anticuerpos de ensayo y/o terapia con inhibidores de puntos de control comenzó el día de la aleatorización. A menos que se indique lo contrario, los anticuerpos de ensayo se administraron dos veces por semana durante 3,5 semanas (TWx3,5w) mediante inyección intraperitoneal (i.p.). Se analizaron grupos de cuatro anticuerpos a dosis de 5 mg/kg (mpk) cada uno (20 mg/kg de anticuerpo total) por inyección i.p. dos veces por semana durante 3,5 semanas (7 dosis). Los animales se trataron en combinación con anticuerpo anti-PD1 de ratón dosificado i.p. a 10 mpk, dos veces por semana durante dos semanas. El anticuerpo líder inicial también se ensayó solo (fuera del grupo) a 20 mpk en combinación con anti-PD1. El conjunto de anticuerpos que contenía el anticuerpo líder mostró actividad antitumoral (FIG. 1).

Se generaron variantes del anticuerpo líder inicial y se ensayaron en el modelo de tumor EMT6 (inyección subcutánea de células tumorales). Las variantes se ensayaron como monoterapia y se administraron en dosis de 10 mpk dos veces por semana durante 3,5 semanas como antes. Se identificaron variantes que tenían actividad antitumoral (FIG. 2A y 2B).

Los datos de probabilidad de supervivencia para el anticuerpo líder inicial y las variantes se muestran en las FIG. 3A y 3B. Los valores de P se calcularon mediante la prueba de rangos logarítmicos. El anticuerpo líder inicial mostró efectos marcados sobre la supervivencia a dosis de 5 mpk y 10 mpk. Las variantes AIP-106042 y AIP-100196 (FIG. 3A) mostraron efectos pronunciados, al igual que las variantes AIP-122563, AIP-165430, AIP-157397 y AIP-171142 (FIG. 3B). Otras variantes también exhibieron una mayor probabilidad de supervivencia, aunque a niveles más bajos (FIG. 3A y 3B). Por ejemplo, el anticuerpo AIP-148327 aumentó la probabilidad de supervivencia el día 40 en comparación con los controles (FIG. 3B).

Los efectos de la administración de variantes sobre el volumen tumoral se muestran en las FIG. 4A y 4B. Los datos se expresan como área normalizada sobre la curva (NAAC). Se calcula un valor de NAAC para cada anticuerpo individual en función de sus curvas de volumen tumoral. Un valor de NAAC está entre 0 y 1. Cuanto más cerca esté el valor a 1, menor será el volumen tumoral con el tiempo, es decir, más eficaz es el tratamiento. Se identificaron variantes que tenían efectos pronunciados sobre el volumen tumoral, p. ej., AIP-106042 y AIP-100196 (FIG. 4A) y AIP-171142, AIP-157397, AIP-165430 y AIP-122563 (FIG. 4B). El tratamiento con otras variantes de anticuerpos también condujo al menos a cierta reducción en el volumen tumoral.

También se generaron variantes de anticuerpos identificados en el cribado de variantes de primera generación con actividad antitumoral. Estas variantes también se evaluaron como monoterapia en el modelo de tumor EMT6 como se describe anteriormente. Las variantes se administraron a las dosis indicadas en las FIG. 5A-5D dos veces por semana durante 3,5 semanas. Se identificaron variantes que tenían efectos antitumorales (FIG. 5A-5D).

Los datos de supervivencia de los anticuerpos tratados con las variantes de segunda generación se muestran en las FIG. 6A y 6B. Los valores de P se calcularon mediante la prueba de rangos logarítmicos. Se identificaron variantes que mostraron un aumento pronunciado en la probabilidad de supervivencia (p. ej., AIP-155066, AIP-166120, AIP-142079, AIP-104188 (FIG. 6A) y AIP-158623, AIP-133645, AIP-136538, AIP-187893 y AIP-160470 (FIG. 6B).

Los efectos de la administración de variantes de segunda generación sobre el volumen tumoral en el modelo de tumor EMT6 se muestran en las FIG. 7A y 7B. Las variantes AIP-155066, AIP-166120, AIP-142079 y AIP-104188 exhibieron valores de NAAC significativamente por encima del control cuando se administraron en una cantidad de 5 mpk y la mayoría también mostró valores de NAAC significativamente por encima del control a 2,5 mpk. Las variantes AIP-158623, AIP-136538, AIP-133645 y AIP-187893 exhibieron valores de NAAC pronunciados para todas las concentraciones ensayadas; con algunas variantes que muestran valores de NAAC muy por encima del control.

El tratamiento con dos de las variantes (AIP-133645 y AIP-160470) identificadas en el análisis anterior se evaluó cuando se administraron en combinación con el anticuerpo anti-PD1. Se usó de nuevo el modelo de tumor EMT6. El

anticuerpo líder inicial se administró en dosis de 5 y 10 mpk. Las variantes se dosificaron a 2,5 y 5 mpk. El anticuerpo anti-PD1 se administró a 10 mpk. El diseño del estudio se muestra en la FIG. 8. Los anticuerpos se administraron por inyección i.p. a las dosis y frecuencias indicadas. En la FIG. 9 se muestra el análisis de supervivencia del anticuerpo líder inicial y dos variantes cuando se administran como monoterapia. Ambas variantes AIP-160470 y AIP-133645 pudieron mejorar la supervivencia en relación con el anticuerpo líder inicial. En la FIG. 10, FIG. 11 y FIG. 12, respectivamente, se muestran los efectos sobre el crecimiento tumoral, la probabilidad de supervivencia y el volumen tumoral para el anticuerpo líder inicial y dos variantes cuando se administran como monoterapia. En la FIG. 13, FIG. 14 y FIG. 15, respectivamente, se muestran los efectos sobre el crecimiento tumoral, la probabilidad de supervivencia y el volumen tumoral cuando los anticuerpos se administraron en combinación con el anticuerpo anti-PD1.

Los efectos antitumorales del anticuerpo líder inicial y las variantes AIP-160470 y AIP-133645 también se evaluaron como monoterapias en un modelo de tumor de ratón singénico ectópico de cáncer colorrectal CT-26. A los animales se les inyectaron por vía subcutánea 10^6 células tumorales CT26 a lo largo del flanco derecho. Los anticuerpos se administraron a una dosis de 20 mpk por inyección i.p. 2x/semana durante 3,5 semanas. En la FIG. 16, FIG. 17 y FIG. 18, respectivamente, se muestran los efectos sobre el crecimiento tumoral, la probabilidad de supervivencia y el volumen tumoral. Los tres anticuerpos exhibieron efectos terapéuticos pronunciados al disminuir el crecimiento tumoral, mejorar la probabilidad de supervivencia y disminuir el volumen tumoral.

Ejemplo 2. Análisis histológico de la unión de anticuerpos

También se analizó la unión a células tumorales humanas y de ratón y tejidos adyacentes. Se analizó el anticuerpo líder inicial y un subconjunto de variantes para determinar la unión al carcinoma de mama positivo para el receptor de estrógeno (ER) humano (Estadio II) y al tejido mamario adyacente. Las muestras congeladas se criosectionaron, se montaron en portaobjetos y se fijaron ligeramente con PFA al 4 %. Los portaobjetos se incubaron con 10, 1 y 0,3 µg/ml de anticuerpo primario y control de IgG (no se detectó señal), seguido de un anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con Cy5, contrateñido con Hoechst y cubierto con un medio de montaje acuoso. Los portaobjetos adyacentes se tiñeron con hematoxilina y eosina (H y E). La FIG. 19 compara la unión del anticuerpo líder inicial al tumor y TAT con la de las variantes AIP-157397 y AIP-165430. La variante AIP-157397 exhibió un aumento pronunciado en la señal de unión al tumor. La señal para la unión a TAT también aumentó en comparación con el líder inicial, pero la unión se pudo titular de manera que no se observara señal en TAT. La variante AIP-165430 exhibió una unión mejorada al tumor en comparación con el líder con un aumento mínimo de la unión a TAT. Los controles de isotipo no mostraron señal (datos no mostrados).

La unión de las variantes AIP-106042 y AIP-100196 a tejido de cáncer de mama positivo para ER humano y TAT también se evaluó usando portaobjetos preparados como se describe y teñidos usando 30, 10 y 3 µg/ml de anticuerpo primario y control de IgG. Las secciones adyacentes se tiñeron con H y E. Ambas variantes AIP-106042 y AIP-100196 se unieron al tejido tumoral, pero a niveles reducidos en comparación con el líder (FIG. 20 y 21). Se observó poca o ninguna unión a TAT incluso a las concentraciones más altas ensayadas (datos no mostrados).

La unión de las variantes AIP-160470, AIP-133645, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-187893, AIP-142079, AIP-184490 y AIP-104188 también se evaluó para tejido tumoral de mama positivo para ER y TAT en comparación con la unión exhibida por el anticuerpo líder inicial. Las secciones de TAT y tumor de mama positivo para ER se tiñeron con H y E y se inmunotiñeron con el anticuerpo líder, la variante o el control de isotipo (IgG) a 1, 3 y 10 µg/ml. Las inmunorreactividades se evaluaron mediante microscopía fluorescente y se capturaron imágenes para las concentraciones. Se detectó inmunorreactividad positiva (es decir, señal por encima del control de IgG) para el líder y todas las variantes (AIP-160470, AIP-133645, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-187893, AIP-142079, AIP-184490 y AIP-104188) con la excepción de AIP-136538 (FIG. 22). Las imágenes se compararon para intensidades de fluorescencia similares en los núcleos de cáncer de mama positivos para ER, independientemente de la concentración de anticuerpos. Con la excepción de AIP-136538 y AIP-104188, todas las variantes ensayadas demostraron intensidades fluorescentes dentro del tumor de mama similares a las observadas con el anticuerpo líder inicial, pero con concentraciones de anticuerpo primario de 3 a 10 veces más bajas. También se evaluó la selectividad del marcaje tumoral frente a la unión a TAT. La relación entre la señal del tumor y el tejido adyacente mejoró notablemente en comparación con el líder con un subconjunto de variantes que incluyen AIP-160470 y AIP-133645.

También se evaluó la unión de anticuerpos a tumores EMT-6. Se recogieron muestras de tumores de animales aproximadamente 7 días después de la inoculación de 10^6 células EMT-6. Se evaluó la actividad de unión a EMT-6 para las variantes AIP-157397, AIP-165430, AIP-160470, AIP-133645, AIP-158623, AIP-155066, AIP-136538, AIP-166120, AIP-187893, AIP-142079, AIP-184490 y AIP-104188 (datos no mostrados). La inmunorreactividad de fondo fue ligeramente superior en el tejido de ratón, probablemente debido a las interacciones con los receptores Fc endógenos. Si bien todas las variantes exhibieron unión a las células tumorales EMT-6, fueron evidentes entre las variantes intensidades diferenciales de las señales.

El anticuerpo líder inicial (FIG. 23A) y las variantes AIP-133645 (FIG. 23B) y AIP-160470 (FIG. 23C) también se evaluaron para determinar la unión al tumor que surge en ratones inoculados con líneas celulares de cáncer humano (xenoinjertos) o líneas celulares de cáncer de ratón (singénico). Los tumores congelados se criosectionaron en portaobjetos. Los anticuerpos y el control de isotipo (IgG) se conjugaron con AF647 y los portaobjetos se incubaron con los conjugados y luego se contrateñeron con Hoechst. También se tiñó una sección adyacente usando H y E. Las

secciones de tumor teñidas usando los anticuerpos variantes mostraron una señal mejorada en comparación con el líder para todos los tumores, incluidos los tumores que surgen de células A549 de pulmón humano, células BXPC3 de páncreas humano, células Colo-205 de cáncer de colon humano o células PC3 de cáncer de próstata humano, y tumores que surgen de líneas celulares de cáncer de colon, mama, pulmón o riñón de ratón.

5 Ejemplo 3. Terapia de Combinación-análisis histológico

El anticuerpo líder inicial se evaluó *in vivo* en el modelo de tumor EMT-6 como monoterapia y en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 usando un programa de dosificación como se describe en el Ejemplo 1. Los tumores EMT-6 de cohortes tratadas con PBS, anti-PD1, anticuerpo líder o terapia de combinación se recogieron a las dos y tres semanas después de la inoculación y se evaluaron histológicamente. Las secciones del tumor se tiñeron con H y E y trícromo de Masson (Tricromo). Los fenotipos de las células inmunes y el estado de activación se evaluaron en secciones tumorales mediante inmunofluorescencia para CD4 (células T CD4+), CD8 (células T CD8+), CD335 (células NK), CD68 (macrófagos) e iNOS (óxido nítrico sintasa inducible). La infiltración de células inmunes se elevó en los tumores después del tratamiento con el inhibidor de puntos de control tanto a las dos (datos no mostrados) como a las tres semanas (FIG. 24) después de la inoculación. Además, se observó una fuerte infiltración tanto a las dos (datos no mostrados) como a las tres semanas (FIG. 24) en tumores de ratones tratados con el anticuerpo líder o la combinación de anticuerpo líder e inhibidor de puntos de control. El aumento de la inmunorreactividad de iNOS indicó una respuesta proinflamatoria activa en los tumores de las cohortes tratadas con el líder y la terapia de combinación.

Ejemplo 4. El ensayo de unión *ex vivo* se correlaciona con la actividad antitumoral *in vivo*

El anticuerpo líder inicial y los anticuerpos variantes se analizaron en un ensayo de unión *ex vivo* para determinar la correlación con la actividad antitumoral *in vivo*. Un esquema del ensayo *ex vivo* se muestra en la FIG. 25. A los ratones se les inyectaron células tumorales y se permitió que el tumor creciera hasta un tamaño de aproximadamente 500-600 mm³. Los tumores se recogieron, digirieron y la unión de anticuerpos a la superficie de las células tumorales vivas se analizó mediante citometría de flujo. La unión se correlacionó con los valores de NAAC que representan el volumen tumoral después del tratamiento *in vivo* con anticuerpo como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados mostraron que la unión de anticuerpos a las células EMT6 *ex vivo* se correlacionaron en gran medida con el resultado *in vivo* (FIG. 26 y FIG. 27). El análisis de flujo *ex vivo* por lo tanto proporciona un ensayo de cribado que se correlaciona en gran medida con la función *in vivo* que se puede usar para identificar anticuerpos que probablemente inciten efectos antitumorales.

Ejemplo 5. Análisis de unión de anticuerpo a diana

Para determinar la diana en las células tumorales a la que se une AIP-192482, se realizó inmunoprecipitación (IP) con extractos de células completas. Las células A549 se incubaron durante la noche en medios libres de metionina y cisteína suplementados con metionina y cisteínas marcadas con ³⁵S (37 °C, CO₂ al 5 %). Las células se lisaron en tampón de ensayo de radioinmunoprecipitación (RIPA) (Tris-HCl 25 mM, pH 7,6, NaCl 150 mM, NP-40 al 1 %, desoxicolato de sodio al 1 %, SDS al 0,1 %) seguido de 5 lavados con tampón (solución salina tamponada con fosfato 1x suplementada con NaCl 450 mM, EDTA 1 mM, NP-40 al 1 %, glicerol al 5 %). Las reacciones de IP usando AIP-192482 o el anticuerpo de control se realizaron durante la noche usando anticuerpos cruzados con perlas paramagnéticas activadas con tosilo Dynabeads™ M-280. A continuación, las perlas se recogieron en imanes y se lavaron en tampón que contenía NaCl 450 mM y se eluyeron con Tris 50 mM, pH 8,0, EDTA 1 mM y desoxicolato de sodio al 1%. El antígeno radiomarcado unido a los anticuerpos se eluyó en tampón de muestra SDS-PAGE reductor 2x y se resolvió en geles SDS-PAGE desnaturalizantes al 4-20 %. Las proteínas resueltas se visualizaron mediante autorradiografía de formación de imágenes con fósforo. Para el análisis por espectrometría de masas (MS), los lisados se prepararon usando células A549 que no se habían marcado metabólicamente y las reacciones de IP se escalonaron proporcionalmente. A continuación, los eluatos se evaluaron mediante análisis nanoLC-MS/MS (realizado por Alphasys y MS Bioworks).

El análisis por SDS-PAGE (FIG. 28) identificó un gran número de proteínas únicas, cuyo tamaño variaba de 15,8 a 152,8 kDa. Numerosas proteínas de unión a ARN se encontraban entre las proteínas identificadas por análisis de MS. Se ha mostrado que un gran número de estas proteínas identificadas están presentes en los gránulos de estrés, véase Markmiller et al., *Cell*, 172, 590-604, 25 de enero de 2018; y Youn et al., *Molecular Cell*, 69, 517-532 (2018) y Jain et al., *Cell* 164, 487-498 28 de enero de 2016. La Tabla 3 enumera proteínas ejemplares identificadas en el complejo de inmunoprecipitación sedimentado por AIP-192482. Estas proteínas identificadas se clasifican en función de si también se sabe que están en gránulos de estrés según los análisis que se han publicado anteriormente: i) el análisis de aislamiento bioquímico en células US-02 como se describe en Jain et al. (2016), ii) el análisis APEX (marcaje de proximidad) realizado en células HEK293 como se describe en Markmiller et al. (2018), iii) el análisis APEX (marcaje de proximidad) realizado en células progenitoras neurales como se describe en Markmiller et al. (2018), y iv) análisis BioID (marcaje de proximidad) en células HEK293 como se describe en Youn et al. (2018). Las proteínas del grupo 1 (12 proteínas) se encuentran entre la lista de proteínas (20 proteínas) que se han detectado previamente en gránulos de estrés mediante los cuatro análisis publicados. Las proteínas del grupo 2 (12 proteínas) se encuentran entre la lista de proteínas (38 proteínas) que se han detectado previamente en gránulos de estrés mediante tres de los cuatro análisis publicados. Las proteínas del grupo 3 (20 proteínas) se encuentran entre la lista de proteínas que se han detectado previamente en gránulos de estrés mediante dos de los cuatro análisis publicados. Las proteínas del grupo 4 (63 proteínas) se encuentran entre la lista de proteínas (139) que Jain *et al.* han detectado previamente en gránulos

de estrés.

Tabla 3. Proteínas ejemplares en el complejo de inmunoprecipitación identificadas por MS

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
TOTAL = 12/20 (60 %)	TOTAL = 12/38 (32 %)	TOTAL = 20/61 (33 %)	TOTAL = 63/139 (45 %)
ATXN2	DHX36	CASC3	ACIN1
FAM120A	ELAVL1	CELF1	ADAR
FUBP3	FMR1	DDX6	ATXN2
FXR1	FXR2	EDC4	BAG2
IGF2BP1	HNRNPA1	FUS	DDX17
IGF2BP2	HNRNPAB	GRSF1	DDX21
IGF2BP3	PABPC1	HNRNPA3	DDX5
PABPC4	PCBP2	HNRNPDL	DHX15
STAU2	PRRC2C	HNRNPH1	DHX30
SYNCRIP	PUM1	HNRNPUL1	DHX9
UPF1	RBMX	MOV10	EDC4
YBX3	ZC3HAV1	PTBP1	EFTUD2
		PTBP3	EIF4A3
		RBM4	ELAVL1
		SND1	FAM120A
		SRSF9	FBL
		TNRC6A	FTSJ3
		TRIM25	FUBP3
		TRIM56	FUS
		YBX1	FXR1
			HNRNPA0
			HNRNPA1
			HNRNPA3
			HNRNPC
			HNRNPPD
			HNRNPH1
			HNRNPH3
			HNRNPL
			HNRNPR
			HNRNPUL1
			IGF2BP1
			IGF2BP2
			IGF2BP3
			ILF2
			ILF3
			MATR3
			MOV10

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
			NOP56
			PABPC1
			PABPC4
			PCBP2
			PLEC
			PRPF8
			PTBP1
			RALY
			RBM14
			RBMX
			RPL14
			RPL4
			RPS8
			RRBP1
			SF3B3
			SNRNP200
			SRRM2
			SRSF10
			STAU2
			SYNCRIP
			TARDBP
			TRIM25
			TRIM56
			UPF1
			YBX3
			ZC3H7A

Como se muestra en la Tabla 3 anterior, hubo una superposición significativa entre la lista de proteínas identificadas en las inmunoprecipitaciones usando AIP-192482 y las que se sabe que están presentes en los gránulos de estrés según la bibliografía publicada. Además, contrariamente a la opinión predominante de que tan poco PABPC1 se divide en gránulos de estrés en las células bajo estrés (6 % según Wheeler et al., Methods 126:12-17 (2017) para permitir inmunoprecipitaciones de gránulos de estrés a partir de lisados crudos mediante el uso de un anticuerpo que se une a PABPC1, como se muestra arriba, AIP-192482 inmunoprecipitó complejos que comprenden PABPC1 con éxito, directamente a partir de lisados de células enteras.

Las proteínas adicionales identificadas en la MS que estaban presentes en los inmunoprecipitados de AIP-192482 a un nivel de 2 veces o más, o con una puntuación de 2 o más, en comparación con los inmunoprecipitados de control son:

ABCF1, ACIN1, ACLY, ADAR, AGO1, AGO2, AGO3, AHNAK, ATP2A2, ATXN2, BAG2, BOP1, BUB3, CAD, CASC3, CDC5L, CELF1, CLTA, CNBP, COPA, CRNKL1, DARS, DDX17, DDX18, DDX21, DDX5, DDX54, DDX6, DHX15, DHX30, DHX36, DHX57, DHX9, DICER1, DKC1, DNTTIP2, EDC4, EEF1D, EEF2, EFTUD2, EIF2AK2, EIF2S1, EIF3D, EIF3E, EIF3I, EIF4A3, EIF4G1, EIF6, ELAVL1, EPRS, FAM120A, FBL, FMR1, FTSJ3, FUBP3, FUS, FXR1, FXR2, GAR1, GEMIN4, GNL3, GRSF1, GTPBP4, HEATR1, HIST1H1B, HIST1H1C, HIST1H3A, HNRNPA0, HNRNPA1, HNRNPA2B1, HNRNPA3, HNRNPAB, HNRNPC, HNRNPD, HNRNPDL, HNRNPF, HNRNPH1, HNRNPH3, HNRNPK, HNRNPL, HNRNPM, HNRNPR, HNRNPUL1, HNRNPUL2, IGF2BP1, IGF2BP2, IGF2BP3, ILF2, ILF3, KARS, KHDRBS1, L1RE1, LARP1, MAGOHB, MAK16, MAP1B, MATR3, MBNL1, MOV10, MRT04, MVP, MYBBP1A, MYO1B, NAT10, NCL, NHP2, NIFK, NKRF, NOL11, NOL6, NOP2, NOP56, NOP58, PABPC1, PABPC4, PCBP2, PDCD11, PES1, PGD, PLEC, PPP1CB, PRKDC, PRKRA, PRPF19, PRPF4B, PRPF8, PRRC2C, PTBP1, PTBP3, PUM1, PURA, PURB, PWP1, PWP2, RAB14, RAB2A, RACK1, RALY, RAN, RBM14, RBM34, RBM4, RBM45, RBM8A, RBMX, RCC2, RPL10A, RPL11, RPL12, RPL13A, RPL14, RPL15, RPL17, RPL18, RPL18A, RPL19, RPL21, RPL22, RPL23, RPL23A, RPL24, RPL26, RPL27, RPL29, RPL3, RPL30, RPL32, RPL34, RPL35A, RPL36, RPL4, RPL5, RPL6, RPL7, RPL7A, RPL8, RPLP0, RPLP1, RPLP2, RPS11, RPS13, RPS17, RPS23, RPS24, RPS26, RPS27A, RPS3, RPS3A, RPS5, RPS6, RPS8, RPS9, RPSA, RRBP1, RRP1, RRP9, RRS1, RSL1D1, RTCB, RUVBL2, RYDEN, SART3, SF3B3, SKIV2L2, SLC3A2, SND1, SNRNP200, SNRNP70, SNRPB, SNRPD1, SNRPD2, SNRPD3, SON, SRP68, SRP72, SRPK1, SRPK2, SRRM2, SRSF1, SRSF10, SRSF2, SRSF3, SRSF6, SRSF7, SRSF9, SSB, STAU1, STAU2, STRAP, SYNCRIP, TARBP2, TARDBP, TCOF1, TCP1, THOC2, THOC6, TNRC6A, TOP1, TRA2A, TRA2B, TRIM25, TRIM56, TTN, U2AF2, UGDH, UPF1, UTP15, UTP18, UTP4, UTP6, WDR12, WDR36, WDR43, WDR46, WDR74, WDR75, XAB2, XRCC5, XRN2, YBX1, YBX3, YTHDC2, ZC3H7A, ZC3HAV1, ZCCHC3, y ZNF326.

5 Para ensayar si el ARN es parte de un complejo al que se une AIP-192482, se prepararon lisados a partir de células A549 radiomarcadas y luego se trataron con cantidades crecientes de ARNasa A (de 0,001 a 10 µg/ml) o ADNasa I (20 µg/ml). Los lisados tratados se emplearon en IP usando AIP-192482. Las proteínas unidas se analizaron mediante SDS-PAGE seguido de autorradiografía. Los resultados mostraron que el tratamiento con ARNasa, pero no con ADNasa, eliminó las proteínas inmunoprecipitadas por AIP-192482 de una manera dependiente de la dosis de ARNasa (FIG. 29). Este efecto fue específico del antígeno de AIP-192482 ya que no se observó tal efecto para la unión de EGFR a un anticuerpo de control anti-EGFR (datos no mostrados). Este resultado indicó que el ARN contribuye a la
10 unión de AIP-192482 a su diana (véanse las FIG38A y 38B).

Se realizó un análisis de MS adicional para identificar la composición de la diana. En uno de estos análisis, el lisado RIPA preparado a partir de células A549 sin marcar se incubó con perlas M-280 conjugadas con AIP-192482 y luego se entrecruzó usando DTSSP (ThermoFisher). Después de apagar, los lisados se trataron con ARNasa (100 ng/ml). Las perlas se lavaron en tampón con alto contenido de sal y el antígeno se eluyó con hidróxido de amonio 0,5 N antes
15 de realizar nanoLC-MS/MS (MS Bioworks). Se realizó la digestión en gel y se analizaron las proteínas. Una proteína de unión a ARN, PABPC1, estaba presente en gran abundancia en los resultados de todas las ejecuciones de MS y se enriqueció después del tratamiento con ARNasa (FIG. 30).

Se expresó PABPC1 como una fusión FLAG C-terminal en células 293T transfectadas transitoriamente con un plásmido de expresión PABPC1-FLAG humano y se purificó mediante cromatografía con anticuerpos anti-FLAG. Se incubó PABPC1 purificado con ARN poli(A) purificado (56 mero) producido a través de la transcripción *in vitro* de un molde de plásmido linealizado dirigido por un promotor T7. Luego se incubó el complejo PABPC1-ARN con Fab de AIP-192482 monovalente y los complejos resultantes se resolvieron en una columna de filtración en gel Superose 6 (GE Lifesciences) en una relación final de 15:15:1 PABPC1: Fab de AIP-192482: ARN en masa. La absorbancia a A₂₈₀ del eluato de la columna y el análisis por SDS-PAGE de las fracciones de la columna (FIG. 31) indicaron que el Fab de AIP-192482, PABPC1 y ARN poli(A) forman un complejo de alto tamaño molecular que eluye de la columna notablemente antes que los componentes individuales. La ARNasa A también se incluyó en una etapa de incubación de AIP-192482 antes de la cromatografía en columna. No se observó ningún complejo de alto tamaño molecular para esta muestra.

Como se explicó anteriormente, los resultados de MS del inmunoprecipitado tratado con ARNasa reticulado de células A549 obtenido usando AIP-192482 mostraron la presencia de PABPC1 en el inmunoprecipitado. También se identificaron PABPC3/4, MOV10, UPF1 y otras proteínas como componentes presentes en el inmunoprecipitado.

Ejemplo 6. Imagenología confocal que muestra la localización y los componentes de los complejos a los que se dirigen los anticuerpos

Se realizó microscopía de inmunofluorescencia en tejidos tumorales de EMT6 teñidos con anticuerpos. Se mostró que AIP-192482 se colocaliza con una subpoblación de estructuras positivas para G3BP dentro de los tumores EMT6. Véase la FIG. 32A-D. Las imágenes mostraron una amplia superposición entre la señal de AIP-192482 y la señal de G3BP, otro marcador de gránulos de estrés. Los resultados muestran la presencia de puntos de G3BP más pequeños que no son positivos para AIP-192482. Aunque un subconjunto de estas estructuras positivas para G3BP, es decir, puntos muy pequeños, no son positivos para la inmunorreactividad de AIP-192482, en agregados más grandes, que tienen una estructura más heterogénea, la reactividad se colocaliza. Esto sugiere que AIP-192482 se asocia con complejos con RNP.

Se mostró que los anticuerpos divulgados en la presente memoria se dirigen a complejos de proteínas localizados extracelularmente a través de microscopía confocal. Como se muestra en la FIG. 33A-D, AIP-160470 reaccionó donde también se detectó reactividad de CD9. La imagenología confocal muestra que la reactividad de AIP-160470 es claramente de naturaleza extracelular, lo que corrobora los datos de citometría de flujo que se describen a continuación. Se realizaron experimentos de microscopía confocal similares con tejido de carcinoma de mama humano, que también mostraron que AIP-160470 se colocalizaba con numerosas vesículas positivas para CD9 de aproximadamente 1 µm de diámetro que eran extracelulares.

La imagenología de microscopía confocal adicional mostró que la señal de AIP-160470 se colocalizaba con las proteínas de unión a ARN, incluidas PABPC1 y MOV10, y el marcaje era consistente con los puntos extracelulares y la membrana plasmática en el tejido de cáncer de ovario humano.

Ejemplo 7. Citometría de flujo que muestra la localización superficial de los complejos a los que se dirigen los anticuerpos

Las células EMT6 se trataron con un agente quimioterapéutico, doxorubicina ("DOX") o cisplatino ("CDDP"), durante 16 horas. Tanto DOX como CDDP son inductores conocidos de gránulos de estrés, Vilas-Boas, et al., *J Neurooncol* 127:253-260 (2016); y Morita et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications* 417: 399-403 (2012). Las células tratadas se sembraron en una placa de 96 pocillos y se tiñeron con AIP-192482, AIP-160470 o AIP-195694 (control negativo). Luego, las células se tiñeron con un anticuerpo secundario que se conjugó con Alexa 647 y se analizaron en un citómetro de flujo. La fluorescencia media geométrica correspondiente a la unión de anticuerpos a las células EMT6 se representó frente a las concentraciones de los agentes quimioterapéuticos usados en el tratamiento de las células, véase la FIG. 35A-B y la FIG. 36. Estos datos muestran que estos anticuerpos se unieron a la superficie de las células, lo que complementa los datos confocales de la FIG. 33, que muestra el crecimiento de las células EMT6 *in vivo* también induce dicha reactividad superficial. Esta localización extracelular en la superficie también es corroborada por el análisis de flujo *ex vivo* del Ejemplo 4.

Ejemplo 8. Generación de variantes de AIP-160470

Las variantes de anticuerpos de AIP-192482 se evaluaron en los ejemplos descritos anteriormente. Se generaron numerosas variantes de anticuerpos adicionales introduciendo varias sustituciones en las CDR, usando AIP-160470 como secuencia de comparación parental. Las variantes se ensayaron en un ensayo de unión al receptor Fc *in vitro*. Las variantes incluían sustituciones individuales introducidas en cada CDR, así como variantes en donde se introdujeron hasta cuatro sustituciones en HCDR1, se introdujeron hasta cinco sustituciones en HCDR2, se introdujeron hasta trece sustituciones en HCDR3, se introdujeron hasta seis sustituciones en LCDR1, se introdujeron hasta tres sustituciones en LCDR2 y se introdujeron hasta seis sustituciones en LCDR3. También se ensayaron combinaciones de variantes de secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3. Las variantes se ensayaron para determinar su actividad *in vitro* y un subconjunto se ensayó para determinar su actividad antitumoral *in vivo* como se describe a continuación. Las secuencias de CDR de las variantes activas se proporcionan en la Tabla 1B y la Tabla 2B.

Actividad in vitro

La actividad de los anticuerpos *in vitro* se determinó usando un ensayo de unión a FcR. Las variantes se ensayaron en un bioensayo informador ADCP FcyRIIIa-H (Promega). Este ensayo se usa para medir la potencia y la estabilidad de los anticuerpos que se unen y activan específicamente FcyRIIIa. El ensayo empleó células Jurkat que expresan de manera estable FcyRIIIa-H humano (la variante H131 de alta afinidad) y luciferasa inducida por NFAT. Después de la unión de un FcyR en células efectoras Jurkat por la región Fc de un anticuerpo de ensayo que se une a una célula diana, se generan señales intracelulares en las células Jurkat que dan como resultado una actividad de luciferasa mediada por NFAT-RE, que se puede cuantificar. El ensayo usado para analizar las variantes se detalla en la sección "Metodología Detallada" a continuación.

La actividad de las variantes activas en el ensayo *in vitro* se muestra en la FIG. 39. Las variantes se consideran activas si exhibieron una CE_{50} de 500 nM o menos; o si tienen un valor de actividad delta, con respecto a AIP-160470, de al menos 0,5, como se muestra en la FIG. 39. Un anticuerpo que tiene un valor delta, relativo a AIP-160470, de cero se considera inactivo. La calificación de la actividad se describe a continuación en la sección "Metodología Detallada".

Actividad in vivo de las variantes

Un subconjunto de variantes que eran activas *in vitro* se seleccionó para evaluar la actividad antitumoral *in vivo* usando el modelo de ratón EMT6. Se realizaron dos rondas de estudios *in vivo*. La ronda 1 incluyó AIP-192482, AIP-160470 y otras 16 variantes. La ronda 2 incluyó AIP-192482, AIP-160470, una variante repetida de la ronda 1 (AIP-101235) y 16 variantes adicionales generadas como se describe en la presente memoria. Por lo tanto, los estudios *in vivo* descritos en esta solicitud comprendían 34 anticuerpos únicos, con 3 de esos 34 anticuerpos ensayados en ambas rondas. Las variantes ensayadas *in vivo* en las Rondas 1 y 2 se describen en las FIG. 40 y 41, respectivamente, que incluyen los valores de CE_{50} y las clasificaciones de actividad Δ . La actividad antitumoral *in vivo* se evaluó usando Supervivencia, una métrica de área normalizada por encima de la curva (NAAC) y una métrica de tasa de crecimiento normalizada (NGRM), donde NAAC y NGRM se desarrollaron ambos en Atreca. A continuación, se proporciona una descripción de estos ensayos en la sección "Metodología Detallada". Como se explica en la sección de Metodología, "activo *in vivo*" basado en la actividad *in vivo* se evaluó mediante un valor de $p \leq 0,05$ en al menos uno de los análisis de supervivencia, NAAC y NGRM, es decir, si un anticuerpo exhibió un valor p menor de o igual a 0,05 para supervivencia, NAAC y/o NGRM (uno cualquiera solo es suficiente), el anticuerpo se considera "activo *in vivo*". El diseño del estudio se muestra en la FIG. 42. La FIG. 43 proporciona datos que muestran el volumen tumoral en las cohortes en la aleatorización en la Ronda 2. La FIG. 44 muestra los efectos antitumorales de las variantes en la Ronda 2, clasificados por supervivencia media. La FIG. 45 muestra los anticuerpos que exhibieron las respuestas más eficaces en la Ronda 2, clasificadas por el tamaño del efecto NAAC. La FIG. 46 muestra los anticuerpos que exhibieron las respuestas más eficaces en la Ronda 2, clasificadas por el tamaño del efecto NGRM. La FIG. 47 muestra los anticuerpos que incitaron las respuestas más completas en la Ronda 2. "Respuesta Completa" (CR) es cuando tres mediciones consecutivas del volumen tumoral (TVM) se registran como 0 mm³ (análisis en el día 40)". Los anticuerpos que incitaron las respuestas más completas se refieren a los anticuerpos que incitaron la mayoría de los animales en el grupo como una respuesta completa, p. ej., si había 6 ratones en el grupo, y 3 de los 6 ratones eran una CR, entonces ese anticuerpo incitó 3 CR, y la figura muestra los anticuerpos con el valor más alto de no. de CR. Los datos para los anticuerpos que exhibieron las respuestas más duraderas en la Ronda 2 se proporcionan en la FIG. 48. "Respuesta Duradera" (DR) como se define en la FIG. 48 representa la ventana posterior a la dosificación de regresión tumoral continua (Análisis en el día 40). Un resumen de la actividad *in vivo* de un subconjunto de anticuerpos variantes que tienen efectos antitumorales se proporciona en la FIG. 49.

Se investigó la relación entre la actividad en el ensayo de FcyRIIIa *in vitro*, la actividad *in vivo* y la actividad antitumoral *in vivo* para determinar si el ensayo *in vitro* predijo la actividad *in vivo*. Para modelar la relación entre los resultados del ensayo del receptor Fc-gamma *in vitro* y la actividad *in vivo*, se construyó un modelo de regresión logística múltiple con términos lineales usando R versión 3.4.3 (The R Foundation). El modelo se entrenó en un subconjunto de datos que incluye AIP-192482, AIP-186435, AIP-172643, AIP-172872 y AIP-114111, lo que da como resultado un solo falso positivo (AIP-163039) de todos los anticuerpos sin actividad *in vivo* observada. Para cada anticuerpo, tanto la CE_{50} (nM) como la actividad delta se promediaron en múltiples ejecuciones, la actividad delta se normalizó a AIP-160470, y la actividad *in vivo* se evaluó por un valor $p \leq 0,05$ en al menos uno de los análisis de supervivencia, NAAC y NGRM. Los resultados se muestran en las FIG. 50A y 50B. El análisis indica que un anticuerpo con CE_{50} *in vitro* y actividad delta normalizada sobre la línea de umbral mostrada en las dos FIG. es generalmente predictivo de exhibir actividad antitumoral *in vivo*.

FR modificados por ingeniería

Las secuencias de V_H y V_L de AIP-160470 también se diseñaron para contener las regiones marco de un gen IGHV o IGLV diferente. Las regiones marco son aquellas entre los residuos CDR definidos. Las regiones FR de la V_H de AIP 160470 corresponden más estrechamente a IGHV3-15, IMGT ID X92216 y las regiones FR de la V_L de AIP 160470 corresponden más estrechamente a IGLV1-47, IMGT ID Z73663.

AIP-127782 tiene las CDR de AIP-160470 y fue diseñado para tener las FR de V_H de IGHV3-72 (IMGT ID X92206) y las FR de V_L de IGLV1-51 (IMGT ID Z73661). AIP-127782 fue activo en el ensayo de unión *in vitro*. También se evaluó la

actividad antitumoral *in vivo* (abajo). Este anticuerpo también mostró actividad antitumoral en el modelo de ratón EMT6.

Se generaron tres anticuerpos adicionales. AIP-180422 tiene las CDR de AIP-160470, FR de V_H de IGHV3-72 (IMGT ID X92206) y FR de V_L de IGLV1-47 nativo (IMGT ID Z73663). AIP-166722 tiene las CDR de AIP-160470, FR de V_H de IGHV3-72 (IMGT ID X92206), y FR de V_L de IGLV1-40 (IMGT ID M94116). AIP-193490 tiene las CDR de AIP-160470, FR de V_H de IGHV3-49 (IMGT ID M99401); y FR de V_L de IGLV1-40 (IMGT ID M94116). Todos estos anticuerpos exhibieron actividad en el ensayo de unión *in vitro*. Estos anticuerpos no se ensayaron *in vivo*.

Metodología detallada

Modelo de tumor de ratón singénico EMT6, evaluación in vivo de la actividad antitumoral

Se usó un modelo de tumor de ratón singénico EMT6 como se describe anteriormente para evaluar la eficacia antitumoral de las variantes quiméricas mIgG2a de ATRC-101. El procedimiento utilizado se modifica de DeFalco *et al.*, *Clin. Immunol.* 187:37-45, 2018. Las células tumorales de ratón EMT6 se propagaron en cultivo pasando las células cada 2 a 3 días (subcultivos 1:10). El día de la inoculación, las células se recogieron, contaron y diluyeron a 5×10^6 células/mL en medio de Waymouth sin suplementos. La viabilidad celular se ensayó inmediatamente antes y después de la inoculación. Se inocularon a cada uno de ratones BALB/c hembra de 4-6 semanas de edad en el flanco posterior derecho mediante inyección subcutánea 1×10^6 células EMT6 en 0,2 ml de medio de Waymouth sin suplementos. El día de la inoculación celular se designó como Día de Estudio 0. Se incluyó un exceso de > 30 % para lograr grupos de estudio con volúmenes tumorales consistentes y homogéneos. Los tumores de ratón se hicieron visibles y palpables de manera consistente aproximadamente tres días después de la inoculación de células. Los volúmenes tumorales se midieron 2-3 veces antes de la aleatorización. Los ratones se aleatorizaron el día 7 del estudio usando la función de aleatorización de "distribución emparejada" del software de gestión de animales de laboratorio StudyLog (versión 3.1.399.23) para garantizar volúmenes tumorales homogéneos. Los ratones con tumores preulcerados, tumores de forma irregular o tumores múltiples se excluyeron de la aleatorización. Los artículos de ensayo y el control de vehículo se prepararon en tampón de formulación (PBS de Dulbecco, DPBS). El anticuerpo diluido se dividió en alícuotas en viales de vidrio de borosilicato de dosis única presellados estériles y se mantuvieron a 4 °C hasta la dosificación. Comenzando el día de la aleatorización, los artículos de ensayo se dosificaron a 10 ml/kg según el peso corporal del ratón a través de una inyección IP dos veces por semana para un total de 7 dosis. A todos los ratones se les administró la dosis programada o hasta que se retiraron del estudio según los criterios de eutanasia definidos y en cumplimiento de los puntos finales según el protocolo de uso animal EB17-010-104 en Explora BioLabs. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana después de la aleatorización usando calibradores electrónicos conectados al software de gestión de animales de laboratorio StudyLog (versión 3.1.399.23). Los volúmenes tumorales se calcularon automáticamente usando la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen Tumoral (mm}^3\text{)} = \text{longitud (mm)} \times \text{anchura}^2 \text{ (mm)} \times 0,5$$

Después de la administración del artículo de ensayo, se consideró que los ratones con volúmenes tumorales de 0 mm³ durante tres mediciones consecutivas mostraban una respuesta completa (CR). Se consideró que los ratones con regresión tumoral consistente que continuaba después del cierre de la ventana de dosificación mostraban una respuesta duradera (DR).

Los ratones se eliminaron cuando se observó cualquiera de los siguientes puntos finales, aprobados por el protocolo IACUC:

Volumen tumoral mayor de $\geq 2.000 \text{ mm}^3$, el tumor impide la función normal del animal (postura, marcha, capacidad para comer o beber, respiración, etc.), o ulceración extensa del tumor (>50 % del área del tumor; o si se demuestra evidencia de que los tumores ulcerados causan dolor crónico).

Los análisis estadísticos de los volúmenes tumorales se realizaron usando el área normalizada por encima de la curva (NAAC) y la métrica de tasa de crecimiento normalizada (NGRM) desarrollada en Atreca, Inc.

Para determinar la NAAC, el área entre la curva de volumen tumoral y el punto final del volumen tumoral de 2.000 mm^3 se dividió por el área total posible a través del Día de Estudio 35 posterior a la inoculación del tumor. El área total posible se determina entre el primer punto de tiempo en donde todos los animales tienen un volumen tumoral mensurable y el Día de Estudio 35 para volúmenes tumorales entre 0 mm^3 hasta 2.000 mm^3 . Los valores NAAC están entre 0 y 1. Los individuos con un área pequeña entre la curva y el punto final del volumen tumoral tienen valores NAAC más cercanos a 0, y los individuos con un área más grande entre la curva y el punto final del volumen tumoral tienen valores NAAC más cercanos a 1.

Para determinar la NGRM, primero se calculó la pendiente para los volúmenes tumorales transformados logarítmicamente frente al tiempo, y luego se volvió a escalar a 20 días después de la inoculación del tumor. Estas pendientes luego se normalizaron a valores entre 0 y 1. Los individuos con un volumen tumoral creciente con el tiempo tienen valores NGRM más cercanos a 0, y los individuos con un volumen tumoral estable o decreciente con el tiempo tienen valores NGRM más cercanos a 1.

Las diferencias estadísticamente significativas entre las distribuciones para el grupo de tratamiento y control se

evaluaron para NAAC y NGRM con una prueba de suma de rangos de Wilcoxon unilateral, lo que rindió un valor p usando R versión 3.4.3 (The R Foundation). Los animales con volúmenes tumorales finales que no alcanzaron los 1.800 mm³ y no sobrevivieron al 80 % de la duración del análisis fueron excluidos del análisis de NAAC y NGRM.

Se realizó un análisis de supervivencia usando los datos del punto final del estudio. Las curvas de supervivencia de cada grupo se estimaron con el método de Kaplan-Meier. Los análisis estadísticos se realizaron usando una prueba de rango logarítmico unilateral para evaluar la ventaja de supervivencia de un grupo de ensayo en relación con el control de PBS usando R versión 3.4.3 (The R Foundation). El modelo predijo que un anticuerpo designado en la presente memoria como AIP-192482, AIP-171142, AIP-165430, AIP-189526, AIP-122563, AIP-158623, AIP-155066, AIP-166120, AIP-133645, AIP-187893, AIP-142079, AIP-160470, AIP-102396, AIP-150055, AIP-167084, AIP-185304, AIP-134770, AIP-141887, AIP-196203, AIP-128195, AIP-116579, AIP-192329, AIP-197809, AIP-142489, AIP-167726, AIP-199834, AIP-143179, AIP-195587, AIP-153462, AIP-115363, AIP-151090, AIP-168083, AIP-161082, AIP-114196, AIP-189338, AIP-183190, AIP-110143, AIP-147176, AIP-134312, AIP-128243, AIP-156172, AIP-147389, AIP-124314, AIP-185291, AIP-135247, AIP-113513, AIP-102299, AIP-179097, AIP-109343, AIP-119622, AIP-191735, AIP-157078, AIP-153475, AIP-133650, AIP-190915, AIP-167400, AIP-109729, AIP-151709, AIP-136628, AIP-101601, AIP-146871, AIP-170053, AIP-199483, AIP-162041, AIP-180675, AIP-183133, AIP-191470, AIP-151167, AIP-106633, AIP-102624, AIP-109484, AIP-126080, AIP-161571, AIP-163039, AIP-101235, AIP-182061, AIP-181246, AIP-192216, AIP-171912, AIP-172872, AIP-167833, AIP-190051, AIP-145518, AIP-167533, AIP-112580, AIP-143155, AIP-119664, AIP-190526, AIP-114403, AIP-156760, AIP-103803, AIP-195588, AIP-145722, AIP-178251, AIP-116142, AIP-183350, AIP-127108, AIP-128147, AIP-109510, AIP-104086, AIP-143132, AIP-170105, AIP-169636, AIP-152243, AIP-138776, AIP-103817, AIP-130491, AIP-188155, AIP-167246, AIP-106139, AIP-198351, AIP-159326, AIP-192275, AIP-190761, AIP-166832, AIP-148062, AIP-129145, AIP-111240, AIP-153888, AIP-130915, AIP-109048, AIP-170569, AIP-154873, AIP-159037, AIP-186826, AIP-156514, AIP-157122, AIP-173276, AIP-150485, AIP-166847, AIP-124013, AIP-126285, AIP-168605, AIP-190274, AIP-136060, AIP-180422, AIP-166722, AIP-127782, AIP-189473, AIP-192571, AIP-112328, AIP-125258, AIP-150199, AIP-125062, AIP-177193, AIP-115388, AIP-107759, AIP-170221, AIP-143369, AIP-189475, AIP-102833, AIP-157045, AIP-175775, AIP-154181, AIP-125984, AIP-160829, AIP-184744, AIP-128136, AIP-181273, AIP-153125, o AIP-131972 tendrá actividad antitumoral.

Ensayo de unión a FcγRIIa usando células tumorales EMT6

La diana de los anticuerpos antitumorales como se describe en la presente memoria se expresa en células tumorales cuando se cultivan *in vivo*, pero no se expresa por células tumorales cultivadas en condiciones de cultivo estándar *in vitro*. El ensayo se realiza en células *ex vivo*, es decir, células tumorales que se cultivaron como un injerto tumoral en un ratón singénico (con concordancia inmune) *in vivo* luego recogido y procesado dentro de las 24-48 horas.

El ensayo tiene de cuatro partes: A. Preparación madre de células de cáncer de mama de ratón EMT6 *in vitro*; Inoculación y crecimiento de tumores EMT6 en ratones Balb/c *in vivo*; C. Recogida de células tumorales EMT6 y preparación de banco celular *ex vivo*; Uso de células EMT6 *ex vivo* para el ensayo de unión a FcγR2a. El protocolo para cada etapa se proporciona a continuación.

A. Preparación de células de cáncer de mama de ratón EMT6 *in vitro*

1. Retirar el vial de células EMT6 del nitrógeno líquido
2. Descongelar en un baño de agua a 37 °C hasta que esté casi completamente descongelado (debe quedar un pequeño trozo de hielo)
3. Añadir la suspensión de células descongeladas (1 ml) a 9 ml de medio de cultivo celular de EMT6 en un tubo de 50 ml
4. Centrifugar, 300xg, temperatura ambiente, 5 min
5. Aspirar el sobrenadante y resuspender las células en 15 ml de medio de EMT6
6. Añadir la suspensión celular al matraz de cultivo celular T75 tratado con TC
7. Cultivar las células en un incubador humidificado a 37 °C con CO₂ al 5 %
8. Suministrar medio fresco los lunes, miércoles y viernes
9. Expandir las células cuando alcanzan el 80 % de confluencia
 - a. Aspirar el medio de cultivo celular del matraz
 - b. Lavar una vez con 10 ml de PBS sin Ca²⁺ Mg²⁺
 - c. Añadir 2ml de TrypLE (no. 12604021, Invitrogen)
 - d. Incubar durante 5 min a 37 °C

- e. Golpear suavemente el matraz para despegar las células (confirmar bajo el microscopio)
- f. Añadir 7 ml de NGM a la placa, pipetear suavemente hacia arriba y hacia abajo para resuspender
- g. Dividir 1:10 en un matraz nuevo
- h. Añadir medio. Pipetear suavemente hacia arriba y hacia abajo para crear una suspensión homogénea
- 5 i. Cultivar las células en un incubador humidificado a 37 °C con CO₂ al 5 %
- 10. Una vez que las células alcancen el 80 % de confluencia, recoger para alícuotas congeladas:
- 11. Despegar las células como se describe arriba y combinar en un tubo de 50 ml
- 12. Tomar 10 µl de suspensión celular y añadir 10 µl de azul de tripano
- 13. Mezclar bien y contar las células con un contador de células Countess II (no. AMQAX1000, Fisher Scientific).
- 10 Calcular la viabilidad celular
- 14. Centrifugar, 300xg, temperatura ambiente, 5 min
- 15. Resuspender en FBS puro a 4×10⁶ células/ml
- 16. Añadir una cantidad igual de FBS que contenga DMSO al 20 % preparado de antemano. (No añadir DMSO al 100 % directamente a las células)
- 15 17. Mezclar bien pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo
- 18. Alicuotar 1ml (2×10⁶ células) de la suspensión celular en criotubos y congelar en Mr Frosty (51000001, ThermoFisher) a -80 °C
- 19. Transferir a N₂ líquido para almacenamiento a largo plazo al día siguiente
- B. Inoculación y crecimiento de tumores EMT6 en ratones Balb/c in vivo**
- 20 Descongelación de células EMT6 del banco principal
- 1. Descongelar 1 vial de células EMT6 de la Sección A en un baño de agua a 37 °C. Transferir las células a un tubo cónico de 15 ml. Añadir 10 ml de medio de crecimiento normal. Centrifugar a 300xg, temperatura ambiente, 5 minutos. Aspirar el sobrenadante. Resuspender el sedimento celular en 15 ml de NGM y sembrar en un matraz T75
- 2. El día 2, subcultivar las células de T75 a T225 usando el método descrito anteriormente para subcultivar las células
- 25 3. El día 4, subcultivar las células 1:10 (1:12 si es durante el fin de semana)
- 4. El día 6 o 7, subcultivar las células 1:10 (1:12 si es durante el fin de semana/si se necesitan mayores cantidades de células, ampliar en esta etapa)
- 5. El día 8 o 9, expandir las células en 10 matraces
- 6. El día 10 u 11, recoger las células para la inyección in vivo:
- 30 inoculación de tumores EMT6
- A. Aspirar los medios de cultivo celular del matraz
- B. Lavar una vez con 10 ml de PBS sin Ca²⁺ Mg²⁺ (20 ml para T225)
- C. Añadir 2ml de TrypLE (no. 12604021, Invitrogen) (5ml para T225)
- D. Incubar durante 5 min a 37 °C
- 35 E. Golpear suavemente el matraz para despegar las células (confirmar bajo el microscopio)
- F. Retirar las células por enjuague del matraz con 7 ml (15 ml para T225) de medio de EMT6
- G. Contar las células y determinar la viabilidad con azul de tripano
- a. No proceder si la viabilidad es inferior al 85 %
- H. Centrifugar, 300xg, RT, 5 min

I. Aspirar el sobrenadante

J. Resuspender las células en medio de Waymouth sin FBS para lograr 5×10^6 células/ml

a. 1 matraz de cultivo celular T225 rendirá alrededor de $18-24 \times 10^6$ células viables

K. Mantener las células en hielo de aquí en adelante

5 L. Anestesiarse ratones hembra BALB/c de 8 semanas de edad usando inhalación de isoflurano

M. Afeitar el flanco izquierdo de los ratones BALB/c

N. Usar una jeringa de 1 ml con una aguja de 25G para inyectar 200 μ l de suspensión celular (1×10^6 células en total) por vía subcutánea

a. Asegurar de no ver el reflujo de células de regreso a la jeringa.

10 b. Asegurar que la suspensión celular no se escape del lugar de la inyección.

O. Comprobar el recuento de células y la viabilidad después de realizar la inoculación

a. Debería estar en una ventana del 10 %

P. Monitorizar el crecimiento tumoral usando calibradores

C. Recogida de tumores EMT6 y preparación del banco de células ex vivo

15 1. Recoger los tumores una vez que alcancen los 500 - 800 mm^3 medido con calibradores

2. Retirar toda la piel y los músculos circundantes

3. Transferir los tumores a medio RPMI en hielo que contengan Primocina a una dilución de 1/500 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

4. (Los tumores se pueden agrupar y los volúmenes aumentar de escala proporcionalmente)

5. Preparar la mezcla de digestión tumoral (por 1 tumor)

20 a. 3,3 ml de HBSS con Ca^{2+} Mg^{2+}

b. 33 μ l de colagenasa A (concentración final: 0,2mg/ml)

c. 33 μ l de Dispasa II (concentración final: 0,8mg/ml)

d. 17 μ l de ADNasa (concentración final: 0,02 mg/ml)

e. 6,6 μ l de Primocina

25 f. Mezclar y filtrar a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,22 micrómetros para esterilizar

6. Recuperar tumores de RPMI. Cortar los tumores en trozos pequeños y añadir 1 ml de mezcla de digestión por tumor

7. Incubar en cualquier tubo FACS con tapa, tubo con tapa de rosca de 15 o 50 ml a 37 ° C en rotación continua durante 15 minutos

8. Permitir que las células se sedimenten durante 30 segundos.

30 9. Retirar con cuidado el sobrenadante con una pipeta de 1 ml y añadirlo a 3 ml de FBS puro en hielo, que contiene Primocina a una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

10. Añadir otro 1 ml de mezcla de digestión y repetir 2 veces para un total de 3 veces

11. (se puede cortar la parte superior de una punta de pipeta de 1 ml y usarla para la disociación mecánica entre las etapas de digestión)

35 12. Después de la última digestión, la suspensión celular debe pasar a través de una punta de micropipeta de 1 ml

13. Filtrar las células recogidas en FBS a través de un filtro de células de 100 micrómetros en un tubo nuevo de 50 ml

14. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 10min

15. Retirar el sobrenadante y resuspender las células en 1 ml de FBS puro (con Primocina a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

16. Contar y ajustar las células a 6×10^6 células/ml con FBS (con Primocina a 100 µg/mL)
 - a. Debido a los restos, los recuentos de células con Countess II o un hemocitómetro pueden ser inexactos
 - i. Se recomienda la tinción de células nucleadas con Draq5 1:1.000 (concentración madre 5 mM) y el recuento en un citómetro de flujo en el canal APC
 - 5 ii. La adición de DAPI a 1:1.000 permite la selección de células vivas de la población nucleada (se requiere láser violeta)
 1. Preparar la solución de tinción añadiendo 1 µl de Draq5 (preparación madre 5 mM) y 1 µl de DAPI a 1 ml de PBS
 2. Añadir 40 µl de solución de tinción a una placa de 96 pocillos de fondo redondo.
 3. Añadir 10 µl de suspensión celular y mezclar bien
 - 10 4. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente en la oscuridad
 5. Analizar muestra por flujo
 - a. Separación en células positivas para Draq5 (canal APC) primero
 - b. Determinar las células negativas para DAPI (canal BV421) dentro de la población positiva para Draq5
 - 15 6. Si el citómetro de flujo puede medir eventos/µl, se puede calcular el número de células directamente (Cytflex puede hacerlo)
 7. Si el citómetro de flujo no puede medir eventos/µl (como la mayoría de los instrumentos BD), se necesitaría añadir perlas de recuento para obtener recuentos de células
 - b. La viabilidad debe estar por encima del 75 %
 17. Resuspender las células a 4×10^6 células/ml con FBS (con Primocina a 100 µg/mL)
 - 20 18. Añadir la misma cantidad de FBS que contiene DMSO al 20 % y 100 µg/mL de Primocina
 19. Mezclar bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo
 20. Alícuotar 1ml (2×10^6 células) de suspensión celular en criotubos y congelar en Mr Frosty a -80 °C
 - a. Número esperado de células $\sim 10 \times 10^6$ células/tumor
 21. Transferir a N₂ líquido para almacenamiento a largo plazo al día siguiente
 - 25 a. Tomar 1 vial de muestra y descongelar según el protocolo "Descongelación de células ex vivo"
 - b. Recuentos de células de control
- D. Uso de células EMT6 ex vivo para el ensayo de unión**
- Descongelación de células ex vivo
1. Descongelar un vial en el baño de agua a 37 °C
 - 30 2. Transferir el contenido del vial a un tubo cónico de 50ml
 3. Añadir 19 ml de RPMI + FBS al 2 % a las células gota a gota, mientras se agita la suspensión
 4. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 5min
 5. Resuspender en 1 ml de PBS + FBS al 2 % + EDTA 2 mM
 6. Centrifugar, 300xg, 4 °C, 5min
 - 35 7. Resuspender en 2 ml de tampón de ensayo (RPMI1640 + suero bajo en IgG al 4 %)
 8. Resuspender en 1 ml de tampón de ensayo
 9. Contar y ajustar las células a $0,5 \times 10^6$ células/ml en tampón de ensayo
 - a. Realizar el recuento de células como se describe en la Sección C; 16a

Ensayo de unión a FcγRIIIa (kit de Promega no, G9991)

1. Preparar diluciones en serie de anticuerpos en tampón de ensayo con un exceso de 1,5X.
 - a. volumen de ensayo total de 75 ul
 - b. concentración de partida 10^{-6} M
- 5 c. diluciones logarítmicas en una curva de respuesta a la dosis de 6 puntos por triplicado
2. añadir 25 ul de la dilución de anticuerpo a una placa blanca de 96 pocillos de fondo plano.
 - a. usar solo 60 pocillos internos
 - b. Llenar los pocillos no usados con 75 ul de tampón de ensayo
3. Añadir 25 ul de células *ex vivo* a cada pocillo que contiene la dilución de anticuerpos
- 10 a. Golpear suavemente la placa para mezclar las células con el anticuerpo
4. Incubar durante 15 minutos a 37 °C, CO₂ al 5%.
5. Descongelar un vial de células efectoras FcγRIIIa-H (0,62 ml) (kit de Promega 3G991) en el baño de agua a 37 °C
 - a. Retirar el vial de 37 °C tan pronto como se descongele
6. Transferir el contenido del vial a un tubo cónico que contenga 5,3 ml de tampón de ensayo
- 15 7. Mezclar invirtiendo el tubo 4-5 veces
8. Contar y ajustar las células a $0,5 \times 10^6$ células/ml
 - a. Los recuentos de células se pueden realizar usando un contador de células regular o un hemocitómetro.
9. Añadir 25 ul de las células efectoras FcγRIIIa-H a las células diana opsonizadas
 - a. Relación E:T de 1:1
- 20 10. Agitar suavemente las placas de un lado a otro para mezclar el contenido (75 ul de volumen total)
11. Incubar durante 5 horas a 37 °C, CO₂ al 5 %
12. Después de 5 horas, preparar la solución de Luciferasa Bio-Glo añadiendo la botella entera de Bio-Glo™
Tampón de ensayo al sustrato del ensayo de luciferasa Bio-Glo (10 ml en total por kit).
13. retirar la placa del incubador
- 25 14. Añadir 75 ul de la mezcla Bio-Glo™ a cada pocillo de reacción
15. Incubar a RT en la oscuridad durante 15 minutos
16. Medir la luminiscencia en un lector de placas adecuado
17. Representar las curvas y calcular los valores de CE50

Reactivos y Tampones

30 **Medios completos de EMT6 (medio de crecimiento normal, NGM)**

Medio MB 752/1 de Waymouth + L-glutamina 2 mM + suero fetal bovino (FBS) al 15 % + pen/estrep al 1 %

Tampón de ensayo

RPMI1640 + suero bovino fetal (FBS) bajo en IgG al 4 %

Colagenasa A (Sigma-Aldrich, no. 10103586001)

- 35 1. Añadir HBSS con Ca²⁺ Mg²⁺ para crear una solución madre de 50 mg/ml
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente

4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
5. Almacenar a -20 °C durante hasta por un mes
6. Evitar repetir los ciclos de congelación/descongelación

Dispasa II (Sigma-Aldrich, no. D4693-1G)

- 5 1. Reconstituir 1 g de Dispasa II en 10 mL de agua de grado de biología molecular con acetato de sodio 10 mM (pH 7,5) y acetato de Calcio 5 mM
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 60 min a temperatura ambiente
4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
- 10 5. Almacenar a 4 °C durante hasta por un mes

ADNasa (Sigma-Aldrich, no. 4536282001)

1. Añadir HBSS con Ca^{2+} Mg^{2+} para crear una solución madre de 2 mg/ml
2. Invertir el tubo varias veces
3. Incubar durante 5 min a temperatura ambiente
- 15 4. Alicuotar en un tubo con tapa a presión de 1,5 ml
5. Almacenar a -20 °C durante hasta 7 días
6. Evitar repetir los ciclos de congelación/descongelación

Ejemplo 9. Evaluación de anticuerpos para la terapia del cáncer – Visión general

- En los siguientes ejemplos se evaluó adicionalmente un anticuerpo para su uso en el tratamiento del cáncer. El anticuerpo se denomina en este ejemplo ATRC-101. Es una inmunoglobulina G completamente humana, subclase 1 (IgG1)/anticuerpo lambda que comprende las regiones V_H y V_L de AIP-160470. Las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera se proporcionan en las SEQ ID NO: 1723 y 1724, respectivamente. ATRC-101 es una variante de secuencia de un anticuerpo descubierto en un repertorio de anticuerpos generado por la tecnología Immune Repertoire Capture® (IRC™) a partir de células B de plasmablastos aisladas de un paciente con adenocarcinoma de
- 20 cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). En el momento de la recogida de la muestra, el paciente estaba bajo tratamiento, que incluía, en parte, un anticuerpo monoclonal anti-receptor de muerte programada 1 (PD-1).

- El perfil de seguridad del ATRC-101 se estableció en una serie de ensayos *in vitro* de liberación de citoquinas y reactividad cruzada tisular, así como un estudio de seguridad de dosis repetidas en un modelo de enfermedad
- 30 singénica (ratones hembra BALB/c inoculados con células tumorales EMT6). También se llevó a cabo un estudio de toxicidad de dosis repetidas de 4 semanas que no cumple con las buenas prácticas de laboratorio (BPL) en monos cynomolgus para evaluar la posible toxicidad no relacionada con la diana de ATRC-101.

- El diseño del paquete de seguridad no clínica para ATRC-101 refleja las características de la diana del anticuerpo y el mecanismo de acción propuesto. La diana de ATRC-101 es un complejo extracelular asociado a tumor que comprende una proteína de unión a ARN y ARN poli(A). Aunque el ARN poli(A) y las proteínas de unión a ARN, tales como los miembros de la familia de proteínas de unión a poliadenilato, se expresan ampliamente en tejidos humanos normales, de mono rhesus y de ratón, ATRC-101 se une preferentemente a las células tumorales. La unión selectiva a tumores de ATRC-101 se observó en una variedad de tipos de tumores humanos, incluidos NSCLC, cáncer de mama, CRC, cáncer de ovario y melanoma, donde las células tumorales fueron positivas, pero los tejidos adyacentes no. La unión a células tumorales EMT6 de ratón extraídas de tejidos tumorales se pierde con el tiempo cuando estas células se
- 35 cultivan *in vitro*. Además, se mostró que la unión de ATRC-101 a tejidos tumorales humanos depende del componente del complejo sensible a la ribonucleasa. ATRC-101 no se une a las células normales adyacentes al tumor, a los tejidos normales del mono cynomolgus y a la mayoría de los tejidos normales del ratón. Juntos, estos datos indican que la diana de ATRC-101 está asociada a tumor y que la localización en la superficie celular depende del contexto del crecimiento del tumor *in vivo*. La asociación con el tumor puede basarse en un mal plegamiento, mala localización, modificación postraduacional y/o factores aún no especificados. Por lo tanto, el ratón y el mono cynomolgus no son especies apropiadas para las pruebas toxicológicas debido a que la expresión de la diana de ATRC-101 es nula o muy
- 40 baja en tejidos animales normales.

- Las evaluaciones farmacológicas en modelos preclínicos indican que una vez que ATRC-101 se une a la diana expresada en las células tumorales, la interacción dependiente de Fc con las células inmunes innatas cambia la
- 50 constitución de las poblaciones de células linfoides y mieloides presentes en el microambiente tumoral de fenotipos

asociados predominantemente con actividades protumorigénicas e inmunosupresoras hacia fenotipos asociados con actividades antitumorigénicas y más proinflamatorias. ATRC-101 no parece mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) *in vitro*. Todos los datos disponibles indican que la unión de ATRC-101 a su diana no desencadena ni anula ninguna vía de transducción de señales.

- 5 ATRC-101 no se une a las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas normales. Además, ATRC-101 no induce la liberación de citoquinas *in vitro* en ensayos basados en PBMC o en sangre completa. Por lo tanto, se considera que ATRC-101 presenta un bajo riesgo de desencadenar la liberación de citoquinas en los seres humanos.

- 10 Para respaldar los estudios preclínicos de eficacia y seguridad en ratones y los estudios farmacocinéticos/toxicocinéticos en monos cynomolgus, se desarrollaron métodos sensibles y específicos de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección de ATRC-101 en suero de ratón y mono, respectivamente.

- 15 El perfil farmacocinético de ATRC-101 se caracterizó en un estudio de dosis única y un estudio de dosis repetida en monos cynomolgus. Después de la administración de un bolo intravenoso (IV) único a monos cynomolgus a niveles de dosis de 1, 10 y 30 mg/kg, el tiempo de concentración sérica máxima ($T_{\text{máx}}$) se observó generalmente entre 0,083 y 1 hora después de la dosis. Las semividas ($T_{1/2}$) variaron de 177 a 225 horas. La tasa de aclaramiento aparente (CL) y el volumen de distribución aparente (Vd) variaron entre 0,15 y 0,436 mL/h/kg y 51,4 y 117 mL/kg, respectivamente. La exposición sistémica a ATRC-101 aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis. En el estudio de toxicidad y toxicocinética de dosis IV repetidas de 4 semanas en monos cynomolgus, donde los animales recibieron 4 dosis semanales de ATRC-101 por administración IV los Días 1, 8, 15 y 22, el $T_{\text{máx}}$ se observó generalmente a las 0,75 horas después del inicio de la infusión (SOI). La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después de $T_{\text{máx}}$. La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

- 25 La seguridad de ATRC-101 y la quimera MFC-042 (que alberga una región Fv humana idéntica de ATRC-101 pero expresada con una región Fc de IgG2a de ratón; también denominada AIP-160470-mlgG2a) se evaluó en el modelo de cáncer de mama singénico EMT6-BALB/c. En este estudio se evaluaron los siguientes parámetros de seguridad: mortalidad/moribundez, signos clínicos, pesos corporales, patología clínica (hematología y química clínica), evaluación de citoquinas en suero, concentraciones de artículos de ensayo en suero, hallazgos macroscópicos de necropsia, peso de órganos y exámenes histopatológicos (9 órganos más tejido tumoral en animales portadores de tumores). La administración intraperitoneal (IP) de dosis repetidas de MFC-042 a niveles de dosis de 0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 y 30 mg/kg o ATRC-101 a niveles de dosis de 0, 1, 10 y 30 mg/kg, a los ratones BALB/c hembras portadores de tumores de cáncer de mama singénicos EMT6 y sin tratamiento previo fue bien tolerado y no se observaron efectos toxicológicamente significativos en ninguno de los parámetros examinados. En base a estos resultados de la evaluación de seguridad, se consideró que el nivel sin efectos adversos (NOAEL) era de 30 mg/kg para MFC-042 y ATRC-101 en ratones BALB/c hembra portadores de tumores de cáncer de mama singénicos EMT6 y sin tratamiento previo.

- 40 Se realizó un estudio de toxicidad de 4 semanas sin BPL en monos cynomolgus para evaluar la posible toxicidad no relacionada con la diana de ATRC-101. En este estudio, se evaluaron los siguientes parámetros en este estudio: mortalidad/moribundez, signos clínicos, consumo cualitativo de alimentos, pesos corporales, patología clínica (hematología, química clínica y análisis de orina), citoquinas, parámetros TK, pesos de órganos, exámenes macroscópicos y microscópicos (20 órganos/tejidos, incluidos el cerebro, el corazón, los pulmones, el hígado, los riñones y el páncreas). La administración de ATRC-101 por infusión intravenosa (IV) una vez por semana durante 4 semanas fue bien tolerada en monos cynomolgus en todos los niveles de dosis administrados: 10, 30 y 45 100 mg/kg/semana. Se consideró que el NOAEL era de 100 mg/kg/semana, con valores de concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) observada asociada de 2.410 µg/mL para machos y 2.690 µg/mL para hembras, y valores del área bajo la curva de tiempo concentración desde el tiempo cero hasta el momento de la última medición (AUC_{0-1}) de 185.000 µg·hr/mL para machos y 186.000 µg·hr/mL para hembras el Día 22 (528 días).

- 50 ATRC-101 y las variantes quiméricas de ATRC-101 demuestran actividad antitumoral en varios modelos de tumores de ratón singénicos. La actividad antitumoral de ATRC-101 se potencia en combinación con un inhibidor de PD-1.

No hubo evidencia clínica de problemas de irritación o tolerancia local en los sitios de inyección de ATRC-101 después de la dosificación repetida (una vez por semana para 4 dosis en total) a dosis de hasta 100 mg/kg (concentración: 20 mg/mL) en monos cynomolgus.

- 55 En el estudio de reactividad cruzada de tejido BPL en tejidos humanos normales, se observó tinción con ATRC-101 en algunos tejidos humanos. Sin embargo, prácticamente toda la tinción fue de naturaleza citoplasmática y, por lo tanto, no se considera un problema toxicológico porque es poco probable que ATRC-101 atraviese las membranas celulares o interaccione directamente con los componentes del citoplasma.

La evaluación farmacológica de ATRC-101 se llevó a cabo usando el candidato clínico ATRC-101, así como variantes

de secuencia de ATRC-101 expresadas con regiones Fc humanas o de ratón según los objetivos del estudio y los modelos/ensayos animales disponibles. En la FIG. 51, se muestra una visión general de la relación entre ATRC-101 y las variantes de secuencia.

Los siguientes Ejemplos proporcionan más detalles de los estudios resumidos anteriormente.

5 Ejemplo 10. Expresión de la diana de ATRC-101 en tejidos tumorales y líneas celulares

Se usaron IHC cromogénica, microscopía de inmunofluorescencia y citometría de flujo para evaluar la expresión de la diana de ATRC-101 (definida en la presente memoria por la reactividad a un anticuerpo de unión) en (i) múltiples tejidos tumorales humanos, (ii) tejidos tumorales de ratón y (iii) líneas celulares tumorales humanas y de ratón.

10 En un análisis de una variedad de tumores humanos, AIP-160470-mIgG2a se unió de manera altamente selectiva a tejidos de tumor de CRC, TNBC y melanoma, pero no a tejidos adyacentes. FIG. 52.

La prevalencia de la unión a la diana se evaluó en un conjunto de núcleos de tumores humanos. Las muestras se clasificaron como no reactivas si la tinción era negativa o débil y reactivas si era moderada, positiva o robusta. La unión a la diana de AIP-160470-mIgG2a estuvo presente en más del 50 % de los núcleos tumorales ensayados para NSCLC (65 %), cáncer de mama (65 %), CRC (57 %) y cáncer de ovario (58 %). El melanoma mostró un 43 % de reactividad. El cáncer de hígado mostró un 19 % de reactividad. Se observaron diferencias específicas del subtipo de cáncer en la proporción de núcleos reactivos.

Estos estudios mostraron que la diana de ATRC-101 se expresaba en gran medida en varios tejidos tumorales humanos, incluidos NSCLC, CRC, TNBC, melanoma y cáncer de ovario. Los datos del estudio indican que la diana de ATRC-101 está asociada con el tumor y que la localización en la superficie celular depende del contexto del crecimiento tumoral.

Se usó inmunofluorescencia para evaluar si la digestión del ARN con nucleasas influía en la unión del anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a al cáncer de mama positivo para el receptor de estrógeno humano (ER+). El pretratamiento de secciones de tejido recién congeladas con ARNasa A y ARNasa H suprimió la unión del anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a al cáncer de mama humano ER+ de una manera dependiente de la concentración. FIG. 53. Por el contrario, el pretratamiento con desoxirribonucleasa (ADNasa) I no suprimió la unión. Estos datos indican que la expresión de la diana de ATRC-101, evaluada mediante inmunofluorescencia, depende del componente de la diana sensible a la ARNasa.

La expresión de la diana de ATRC-101 se evaluó en células tumorales EMT6 de ratón que se cultivaron en un ratón BALB/c singénico. El anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a se unió a los núcleos tumorales singénicos EMT6-BALB/c, pero no a los tejidos adyacentes.

La expresión superficial de la diana de ATRC-101 también se evaluó mediante citometría de flujo en líneas celulares tumorales derivadas de ratones y humanos. El anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a se unió a células tumorales singénicas EMT6-BALB/c de ratón *ex vivo*, disociadas y teñidas inmediatamente. No se detectó la unión cuando las células EMT6 de ratón *ex vivo* se cultivaron posteriormente *in vitro* durante dos o más días antes de la tinción. Cuando las líneas celulares de ratón EMT6 solo se cultivaron *in vitro* antes de la tinción y sin cultivarlas como injertos subcutáneos en ratones BALB/c, no se observó unión. También se observó la unión a la superficie *ex vivo* a células tumorales Renca, CT26 y LLC1 que se cultivaron como injertos subcutáneos en ratones antes de la tinción. No se observó unión a la superficie para 21 líneas de células tumorales humanas cultivadas *in vitro*.

Conjuntamente, las observaciones de IHC, inmunofluorescencia y citometría de flujo indican que la diana de ATRC-101 es un complejo asociado a tumor que contiene ARN y que la expresión de este complejo y su localización en la superficie dependen de cómo se cultivaron las células tumorales.

Ejemplo 11. Expresión de la diana de ATRC-101 en tejidos humanos, de mono *Cynomolgus* y de ratón normales y células sanguíneas humanas normales

Se usaron IHC cromogénica e inmunofluorescencia para evaluar la expresión de la diana de ATRC-101 (definida en la presente memoria por la reactividad a un anticuerpo de unión) en (i) tejidos humanos normales, (ii) tejidos de mono *cynomolgus* normales y (iii) tejidos de ratón normales.

La unión específica de AIP-160470-mIgG2a se evaluó mediante inmunofluorescencia en dos micromatrices de tejido fijados con formalina e incluidos en parafina (FFPE) que representan 30 tipos de tejido humano normal (FDA808J-1 y FDA808J-2). Se usó el anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a para minimizar las interacciones no específicas. Se observó unión selectiva a tumor en adenocarcinoma humano, que se incluyó como control positivo (FIG. 54A).

Se observó inmunorreactividad de AIP-160470-mIgG2a en tejidos normales de los 90 núcleos. Solo el estómago y el cerebelo mostraron una señal difusa no definitiva sobre el control de isotipo, cada uno en uno de los tres núcleos con signos de autólisis. Se detectó una débil señal heterogénea en el epitelio glandular acinar seroso de la lengua (glándula salival de la cabeza y el cuello), que es de naturaleza secretora, lo que aumenta la probabilidad de una unión no

específica. En contraste con AIP-160470-mIgG2a, el anticuerpo policlonal comercial generado frente a PABPC-1 mostró inmunorreactividad tanto para tejidos tumorales como para tejidos normales (FIG. 54A y 54B). En un análisis separado, también se observó la unión selectiva a tumor mediante la evaluación IHC de cáncer colorrectal y tejidos humanos normales de hígado, riñón, estómago, corazón, páncreas y pulmón.

- 5 La potencial reactividad cruzada entre especies de ATRC-101 se evaluó en tejidos normales de mono cynomolgus y ratón en un estudio que no cumple con las BPL. Se mostró que la concentración de anticuerpo ATRC-101 usada para esta evaluación marca de manera preferencial y distinguible las células malignas viables dentro del tumor EMT6 de ratón de control positivo y no marca la piel o el estroma adyacentes. En tejidos de mono cynomolgus normales frescos congelados que representan 15 tipos de órganos, no se detectó tinción definitiva sobre el control de isotipo en estas condiciones. En tejidos de ratón normales frescos congelados que representan 30 tipos de órganos distintos, la mayoría no mostró una reactividad definitiva. Se observó una tinción de débil a mínima en la cavidad oral, el estómago, el intestino delgado y el bazo del ratón.

- 10 No se observó unión del anticuerpo parental quimérico AIP-192482-mIgG2a y el anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a a preparaciones de PBMC humanas normales mediante citometría de flujo a concentraciones en las que se observó la unión a células tumorales singénicas EMT6-BALB/c *ex vivo*.

Ejemplo 12. Afinidad de unión de ATRC-101 y variantes de ATRC-101 y actividad *in vitro*

- Como se explicó anteriormente, la actividad *in vitro* de ATRC-101 se evaluó en el ensayo de unión dual de diana y efector. Este ensayo usa células Jurkat diseñadas que llevan un informador de luciferasa y células tumorales EMT6 *ex vivo* (de preparación madre congelada) para detectar la unión dual de Fv y Fc. El gen informador FcyRIIIa-H se activa en presencia de células EMT6 *ex vivo* y proteína ATRC-101, y da como resultado la expresión de la luciferasa. La actividad del gen informador está determinada por el sistema de ensayo de luciferasa Bio-Glo™.

- En este ensayo, ATRC-101 indujo la expresión de la luciferasa con una concentración efectiva mitad de la máxima (CE₅₀) de 67,8 ± 37 nM. Cuando el ensayo se realizó usando células EMT6 cultivadas, que no expresan niveles detectables de la diana de ATRC-101, no se detectó señal de la luciferasa. De manera similar, una variante de Fc aglicosilada de ATRC-101, que alberga una mutación N297A y, por lo tanto, carece de función efectora de Fc, no indujo la señal de la luciferasa en este ensayo. Estos datos indican que tanto la unión de la diana a la región Fv como la unión de FcyR2a por la región Fc son necesarias para la actividad de ATRC-101 en el ensayo de unión dual de diana y efector.

- La potencia *in vitro* en el ensayo de unión dual de diana y efector fue mayor para ATRC-101 (AIP-160470-hIgG 1), seguido de la variante de optimización de secuencia AIP-133645-hIgG1 y luego el anticuerpo parental AIP-192482-hIgG1. De manera similar, la potencia *in vivo* en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c fue mayor para la variante quimérica de ATRC-101 (AIP-160470-mIgG2a), seguida de la variante quimérica AIP-133645-mIgG2a, con la variante quimérica del anticuerpo parental AIP-192482-mIgG2a que muestra el efecto antitumoral más bajo.

- Se realizaron ensayos de ADCC y CDC *in vitro* para evaluar si ADCC o CDC contribuyen al mecanismo de acción de ATRC-101. El ensayo ADCC usó una línea celular NK92 transfectada con CD16 como células efectoras y, como células diana, células EMT6 derivadas de tumores *ex vivo*, que expresan la diana, o células EMT6 cultivadas, que no expresan la diana. El anticuerpo quimérico AIP-160470-mIgG2a no demostró actividad de muerte de células de ratón EMT6 *ex vivo*, Renca *ex vivo*, o LLC1 *ex vivo* en este ensayo, mientras que un anticuerpo de control positivo AIP-171125-mIgG2a demostró la muerte de varias células diana.

- De manera similar, AIP-192482-mIgG2a no mostró actividad de CDC en el ensayo de CDC usando sueros de conejo como fuente de complemento y células EMT6 derivadas de tumores. *ex vivo* como células diana. Estos datos indican que ATRC-101 no parece actuar a través de los mecanismos ADCC o CDC.

Evaluación de la liberación de citoquinas inducida por ATRC-101 en células mononucleares de sangre periférica humana y ensayos in vitro de sangre completa

- 45 La activación sistémica de las células inmunes por anticuerpos monoclonales puede dar lugar al síndrome de liberación de citoquinas. Se ha mostrado que un ensayo de liberación de citocinas (CRA) *in vitro* que usa anticuerpos inmovilizados y PBMC humanas, predice el síndrome de liberación de citoquinas en los pacientes. La capacidad de ATRC-101 para inducir la liberación de citoquinas *in vitro* se evaluó usando PBMC humanas y versiones de sangre completa de un CRA en Charles River Laboratories (Portsmouth, Reino Unido).

- 50 En la versión de PBMC del CRA, se evaluó la capacidad de ATRC-101 para inducir la liberación de citoquinas en PBMC obtenidas de múltiples donantes humanos sanos. Este formato de ensayo usa artículos de ensayo y control inmovilizados a 1 µg/pocillo y se considera capaz de predecir respuestas de tormenta de citoquinas similares a las observadas durante el ensayo clínico de fase I del anticuerpo monoclonal terapéutico TGN1412. Se usaron el clon 28.1 anti-CD28 (Anell Corp., Bayport, MN, EE. UU.) y muromonab anti-CD3 (Orthoclone OKT3) como controles positivos en el CRA de PBMC. Se incluyeron como controles negativos un anticuerpo de isotipo IgG1 humano (hIgG1) (dirigido a β-galactosidasa), tampón de formulación y solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (DPBS).

En la versión de sangre completa del CRA, se evaluó la capacidad de ATRC-101 para provocar la liberación de citoquinas en sangre completa de múltiples donantes humanos sanos. Este formato de ensayo usa artículos de ensayo en solución a una concentración de 1,1 nM. Se usaron anti-CD28 y alemtuzumab (anti-CD52) como controles positivos y se incluyeron como controles negativos anticuerpos de isotipo hlgG1, tampón de formulación y DPBS en este formato de ensayo.

Tanto en las versiones de CRA de PBMC como de sangre completa, la liberación de citoquinas observada con ATRC-101 fue comparable a la liberación de citoquinas observada con el control de isotipo hlgG1. La liberación de citoquinas relacionada con ATRC-101 fue generalmente significativamente más baja que la observada en respuesta a la estimulación con los anticuerpos de control positivo relevantes. Según estos datos, ATRC-101 presenta un bajo riesgo de desencadenar la liberación de citoquinas en seres humanos.

Ejemplo 13. Farmacología *in vivo*

Se mostró que ATRC-101 se une a complejos reconstituidos *in vitro* que contienen ARN transcrito *in vitro* y (i) PABPC-1 de humano/o de primate no humano recombinante o (ii) PABPC-1 de ratón recombinante con afinidad comparable y unirse a núcleos tumorales de humanos y ratones. Por lo tanto, se llevó a cabo la evaluación farmacológica *in vivo* de ATRC-101 en modelos de ratones singénicos usando el candidato clínico ATRC-101, así como variantes de secuencia de ATRC-101 expresadas con regiones Fc humanas o de ratón. Se espera que las variantes quiméricas de ratón tengan una mayor eficacia antitumoral en modelos de ratón singénicos que hlgG1, ya que hlgG1 tiene una afinidad reducida por los receptores Fc gamma de ratón.

Evaluaciones preclínicas de eficacia y seguridad de MFC-042 y ATRC-101 en el modelo de cáncer de mama singénico EMT6 (Estudios ATRC-101.PD.18.01 y ATRC-101.PD.18.02)

El objetivo de este estudio fue evaluar los puntos finales preclínicos de eficacia y seguridad de MFC-042 (que alberga una región Fv humana idéntica de ATRC-101, pero expresada con una región Fc de IgG2a de ratón; también conocida como AIP-160470-mIgG2a) y ATRC-101 administrado a ratones BALB/c hembra portadores de tumores de cáncer de mama singénicos EMT6 y sin tratamiento previo. Este estudio constaba de dos partes que se realizaron simultáneamente: evaluación de MFC-042 (Parte A; ATRC-101.PD.18.01) y ATRC-101 (Parte B; ATRC-101.PD.18.02).

En la Parte A del estudio, siete grupos de ratones hembra BALB/c (15 animales/grupo) con tumores EMT6 subcutáneos establecidos (volúmenes tumorales medios (MTV) de grupo = 112 a 113 mm³) se dosificaron mediante inyección intraperitoneal (IP) con 0 (vehículo), 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg o 30 mg/kg de MFC-042 en los Días 1, 4, 8, 11 y 15. Se trataron dos grupos de ratones sin tumor (sin tratamiento previo) (15 animales/grupo) con vehículo o 30 mg/kg de MFC-042 con el mismo régimen de dosis. Los animales fueron sacrificados para exámenes de necropsia el Día 16.

En la Parte B del estudio, cuatro grupos de ratones hembra BALB/c (15 animales/grupo) con tumores EMT6 subcutáneos establecidos (grupo MTV = 108 mm³) se dosificaron mediante inyección IP con 0 mg/kg (vehículo), 3 mg/kg, 10 mg/kg o 30 mg/kg de ATRC-101 los Días 1, 4, 8, 11 y 15. Dos grupos de ratones sin tratamiento previo (15 animales/grupo) se trataron con vehículo o 30 mg/kg de ATRC-101 con el mismo régimen de dosis. Los animales fueron sacrificados para exámenes de necropsia el Día 16.

En este estudio se evaluaron los siguientes parámetros y puntos finales: mortalidad/moribundez, signos clínicos, pesos corporales, evaluación de la eficacia general, parámetros de patología clínica (hematología y química clínica), evaluación de citoquinas séricas, concentraciones séricas del artículo de ensayo, hallazgos macroscópicos de la necropsia, pesos de órganos, y exámenes microscópicos (9 órganos y más tejido tumoral en animales portadores de tumores). La eficacia general se determinó en función de la inhibición del crecimiento tumoral (TGI), definida como la diferencia porcentual entre los MTV de los grupos tratados y de control, y se evaluó el Día 15 (Parte A) o el Día 14 (Parte B).

La administración IP de dosis repetidas de MFC-042 y ATRC-101 a ratones BALB/c hembra que portaban tumor de cáncer de mama EMT6 y sin tratamiento previo fue bien tolerada a niveles de dosis de hasta 30 mg/kg.

En la Parte A (FIG. 55A), el MTV del Grupo 1 (control del vehículo) había alcanzado 787 mm³ el Día 15, con volúmenes tumorales individuales que variaban de 288 a 1.352 mm³. En comparación, los grupos de tratamiento con MFC-042 en dosis más bajas (Grupos 2 a 4) no difirieron estadísticamente del grupo de control del vehículo ni entre sí ($p > 0,05$ usando la prueba U de Mann-Whitney), con MTV de 719, 847 y 726 mm³, equivalente a 9, -8 y 8 % del TGI para los grupos de tratamiento que recibieron 0,1, 0,3 y 1 mg/kg de MFC-042, respectivamente. Las dosis más altas de MFC-042 (3, 10 y 30 mg/kg) redujeron los MTV a 221 (72 % de TGI), 92 (88 % de TGI) y 196 mm³ (75 % de TGI), respectivamente, y diferían significativamente del Grupo 1 ($p < 0,01$ para 3 mg/kg y $p < 0,001$ para 10 y 30 mg/kg). De forma notable, las tres dosis altas lograron TGI que estaban muy por encima del umbral del 60 % considerado por la organización de investigación por contrato para indicar una actividad terapéutica potencial. Se observó una actividad antitumoral mínima a 3 mg/kg con concentraciones séricas que variaron de 16,6 a 20,3 µg/mL. La actividad antitumoral máxima se observó a 10 mg/kg con concentraciones séricas medidas que variaron de 21,9 a 87,5 µg/mL a las 6 horas posteriores a la dosis en el Día 1. Microscópicamente, los tumores en ratones tratados con ≥ 3 mg/kg de MFC-042

tenían áreas más pequeñas de necrosis, ocasionalmente carecían de un área central de necrosis y a menudo iban acompañados de inflamación de células mixtas (≥ 10 mg/kg). No se observaron émbolos tumorales en el pulmón de ratones a los que se administró MFC-042 a ≥ 10 mg/kg.

En la Parte B (FIG. 55B), el MTV del Grupo 1 (control del vehículo) había alcanzado 486 mm³ el Día 14, con volúmenes tumorales individuales que variaron de 221 a 936 mm³. En comparación, el tratamiento con 1 mg/kg de ATRC-101 (Grupo 2) no difirió estadísticamente del control del vehículo ($p > 0,05$) con un MTV de 550 mm³, equivalente a -13 % de TGI. Por el contrario, las dosis más altas de ATRC-101 (10 y 30 mg/kg) redujeron los MTV a 256 mm³ (47 % de TGI) y 75 mm³ (85 % de TGI), respectivamente, y diferían significativamente del Grupo 1 ($p < 0,01$ para 10 mg/kg y $p < 0,001$ para 30 mg/kg). De manera notable, 30 mg/kg de ATRC-101, donde la concentración sérica más alta medida fue de 295 µg/mL, superó el umbral de 60 % de TGI para indicar una potencial actividad terapéutica. Se espera una potencia más baja de ATRC-101 en comparación con MFC-042 dado que ATRC-101 es un anticuerpo totalmente humano con una afinidad reducida por los receptores Fc gamma de ratón. Microscópicamente, los tumores en ratones tratados con 30 mg/kg de ATRC-101 tenían áreas de necrosis más pequeñas, ocasionalmente carecían de un área central de necrosis y tenían una tasa mitótica más baja. Además, no se observaron émbolos tumorales en el pulmón de ratones tratados con ATRC-101.

En resumen, la administración de MFC-042 (3 mg/kg, 10 mg/kg y 30 mg/kg) o ATRC-101 (10 mg/kg y 30 mg/kg) inhibió significativamente el crecimiento de tumores de carcinoma mamario EMT6 singénico en ratones BALB/c hembra. Todos los tratamientos fueron bien tolerados.

Eficacia de las variantes de ATRC-101 en los modelos de tumores de ratones singénicos

La eficacia antitumoral de las variantes quiméricas de ATRC-101 se evaluó en modelos de tumores singénicos EMT6, CT26 y E0711, elegidos en función de su capacidad de respuesta demostrada a la terapia con inhibidores de puntos de control. Estos estudios se realizaron usando variantes quiméricas de ratón, que albergan una región Fv humana expresada con una región Fc de ratón para permitir interacciones óptimas con los receptores Fc gamma de ratón *in vivo*.

Eficacia de las variantes de ATRC-101 solas o en combinación con el bloqueo de PD-1 en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6

Se realizaron cuatro estudios para evaluar la eficacia antitumoral de las variantes quiméricas mlgG2a de ATRC-101 en el modelo de cáncer de mama de ratón singénico EMT6. En los tres estudios, se inoculó a los ratones BALB/c por vía subcutánea 1×10^6 células de carcinoma mamario de ratón EMT6 el Día 0 y la administración del artículo de ensayo se inició cuando se establecieron los tumores. Las comparaciones estadísticas entre los volúmenes tumorales de diferentes grupos de tratamiento se realizaron mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de NAAC y los parámetros de métrica de tasa de crecimiento normalizada (NGRM) desarrollados en Atreca, Inc.

En un estudio (Estudio EFF-010), se usó el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c para evaluar el impacto de la función efectora de Fc en la eficacia antitumoral después de la administración de la variante de isotipo AIP-192482. El anticuerpo parental AIP-192482 se expresó como un mlgG2a competente para Fc efector (AIP-192482-mlgG2a), un mlgG2a no N-glicosilado mutante Fc efector (AIP-192482-mlgG2a-N297A), o inmunoglobulina G de ratón, subclase 1 (mlgG1; AIP-192482-mlgG1) o inmunoglobulina G de ratón, subclase 3 (mlgG3; AIP-192482-mlgG3) con función efectora Fc débil en comparación con mlgG2a.

En este estudio, la administración de 10 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a condujo a una eficacia antitumoral significativa en comparación con el control del vehículo ($p < 0,0001$ basado en la prueba de suma de rangos de Wilcoxon unilateral de NAAC o NGRM) con regresión tumoral completa (CR) observada en 15 de 20 ratones (FIG. 56). No se observó una eficacia antitumoral significativa después de la administración de la variante AIP-192482-mlgG2a-N297A, mientras que AIP-192482-mlgG1 y AIP-192482-mlgG3 mostraron algunas actividades antitumorales ($p < 0,001$ y $p = 0,01$, respectivamente, según la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de NAAC). Estos resultados indican que la función efectora de Fc está vinculada a y es necesaria para la actividad antitumoral de AIP-192482 parental quimérico en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c.

En otro estudio (Estudio EFF-016), siete grupos de ratones con tumores EMT6 subcutáneos establecidos (volumen tumoral medio del grupo de 156 mm³) se aleatorizaron a grupos de tratamiento de 20 ratones por grupo el Día 6 del estudio. Los ratones se dosificaron IP con (i) 10 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a, (ii) 5 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a, (iii) 5 mg/kg de AIP-133645-mlgG2a, (iv) 2,5 mg/kg de AIP-133645-mlgG2a, (v) 5 mg/kg de AIP-160470 mlgG2a, o (vi) 2,5 mg/kg de AIP-160470-mlgG2a los Días 7, 10, 14, 17, 21, 24 y 27. Los animales de control del vehículo se dosificaron con PBS de Dulbecco (DPBS).

La administración de AIP-192482-mlgG2a, AIP-133645-mlgG2a o AIP-160470-mlgG2a condujo a una reducción significativa en el volumen tumoral en cada nivel de dosis ensayado en comparación con el grupo de control del vehículo mediante análisis métricos NAAC y NGRM (FIG. 57). A la dosis de 5 mg/kg, tanto AIP-133645-mlgG2a como AIP-160470-mlgG2a tuvieron una eficacia antitumoral significativamente mayor que AIP-192482-mlgG2a ($p < 0,05$ por análisis NAAC y NGRM para ambas comparaciones. A 5 mg/kg, se observó el mayor tamaño del efecto en comparación con la administración de control de vehículo (indicativo del efecto antitumoral) para AIP-160470-mlgG2a.

La administración de AIP-192482 mlgG2a, AIP-133645-mlgG2a o AIP-160470-mlgG2a en cada nivel de dosis produjo un beneficio de supervivencia significativo en comparación con la administración del vehículo ($p < 0,001$ para todos los artículos de ensayo y niveles de dosis), con una mediana de supervivencia retrasada en relación con el grupo de control del vehículo.

- 5 Todas las variantes quiméricas mlgG2a de ATRC-101 mostraron eficacia antitumoral en este estudio, observándose el mayor tamaño del efecto para AIP-160470-mlgG2a, la versión quimérica de ATRC-101.

En el Estudio EFF-004, se usó el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c para evaluar el impacto de 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a en el volumen tumoral y la supervivencia cuando se administró solo o en combinación con 10 mg/kg de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón (clon RMP1-14, BioXCell). En este estudio, 10 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a mostraron una actividad antitumoral significativa cuando se administraron solos o en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón, mientras que el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón no mostró eficacia antitumoral cuando se administró como monoterapia.

En este estudio, la administración de AIP-192482-mlgG2a solo y AIP-192482-mlgG2a en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón provocó CR en 11 de 16 y 13 de 15 ratones, respectivamente. Los animales con CR se volvieron a pulsar el Día 51, 24 días después del último tratamiento. De los 24 ratones que tuvieron CR después de la administración de AIP-192482-mlgG2a solo o en combinación con anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón, 20 permanecieron libres de tumores después del nuevo pulso, lo que indica que AIP-192482-mlgG2a puede inducir la memoria inmunológica.

El impacto de la coadministración con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón se exploró más a fondo en el estudio EFF-020. Se aleatorizaron ratones BALB/c hembra con tumores EMT6 subcutáneos establecidos en grupos de tratamiento de 20 ratones por grupo el Día 7 del estudio, con un volumen tumoral medio de grupo de aproximadamente 104 mm³. Los ratones se dosificaron IP con vehículo (DPBS) o 2 niveles de dosis cada uno de AIP-192482-mlgG2a o AIP-160470-mlgG2a los Días 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28. Los ratones también se dosificaron IP con 10 mg /kg de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón (clon RMP1-14, BioXCell) o vehículo (DPBS) los Días 7, 11, 14, 18.

En este estudio, los grupos de tratamiento con monoterapia mostraron una reducción significativa en el crecimiento tumoral en comparación con el grupo de control con vehículo ($p < 0,01$ para los análisis métricos de NAAC y NGRM para cada comparación. La administración de 5 mg/kg o 10 mg/kg de AIP-192482 mlgG2a en combinación con anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón condujo a una reducción significativa en los volúmenes tumorales en comparación con el grupo de control de vehículo, el grupo de monoterapia con anti-PD-1 de ratón, y el respectivo grupo de monoterapia con AIP-192482-mlgG2a ($p < 0,05$ por análisis métrico de NAAC y NGRM para cada comparación; (FIG. 58A). El número de CR aumentó de 0 en los grupos de monoterapia con AIP-192482-mlgG2a a 6 CR y 4 CR, respectivamente, con 5 mg/kg o 10 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a en combinación con anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón.

En este estudio, la administración de 2,5 mg/kg o 5 mg/kg de AIP-160470-mlgG2a en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón condujo a una reducción significativa de los volúmenes tumorales en comparación con el grupo de control de vehículo y el grupo de monoterapia con anti-PD-1 de ratón ($p < 0,001$ por análisis de métrica de NAAC y NGRM para cada comparación; FIG. 58B). Los volúmenes tumorales no fueron significativamente diferentes entre la administración de AIP-160470-mlgG2a en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón y la administración de AIP-160470-mlgG2a como monoterapia en cualquier nivel de dosis. Sin embargo, el tamaño del efecto y el número de CR aumentaron.

Eficacia de las variantes de ATRC-101 en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c

Se realizaron dos estudios, EFF-031 y EFF-039, para evaluar la eficacia antitumoral de las variantes quiméricas mlgG2a de ATRC-101 en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c. En ambos estudios, se inocularon a ratones BALB/c por vía subcutánea 1×10^6 de la línea celular de carcinoma de colon de ratón CT26 y la administración del artículo de ensayo se inició cuando se establecieron los tumores. Las comparaciones estadísticas entre los volúmenes tumorales de diferentes grupos de tratamiento se realizaron mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de los parámetros NAAC y NGRM desarrollados en Atreca, Inc.

En el Estudio EFF-031, se usó el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c para evaluar el impacto de (i) AIP-192482-mlgG2a, (ii) AIP-133645-mlgG2a o (iii) AIP-160470-mlgG2a, dosificados IP a 20 mg/kg tres veces por semana durante 3 semanas, sobre el volumen tumoral y la supervivencia. En este estudio, los tres artículos de ensayo mostraron una eficacia antitumoral significativa y un beneficio en la supervivencia en comparación con un grupo de control de vehículo dosificado con DPBS.

En el Estudio EFF-039, los ratones con tumores CT26 subcutáneos establecidos (volumen tumoral medio del grupo de aproximadamente 145 mm³) fueron aleatorizados a grupos de tratamiento el Día 9 del estudio. Los ratones se dosificaron IP con 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a (40 ratones) o vehículo (DPBS; 20 ratones) los Días 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27 y 29. Los tumores en el grupo de control de vehículo mostraron un rápido crecimiento de los volúmenes tumorales FIG. 59A). La actividad antitumoral de AIP-192482-mlgG2a fue significativamente mayor que en el grupo de control del vehículo ($p = 1,21 \times 10^{-10}$ para NAAC y $p = 1,63 \times 10^{-11}$ para NGRM). Se observó un beneficio significativo

en la supervivencia en el grupo de tratamiento con AIP-192482-mlgG2a en comparación con el control de vehículo.

Los animales dosificados con AIP-192482-mlgG2a se observaron hasta el Día 97 para evaluar la durabilidad de la respuesta. Sobre el Día 97, el grupo al que se le había administrado AIP-192482-mlgG2a mostró CR en 21 de 40 ratones (FIG. 59B).

- 5 Se inocularon a los animales con CR 1×10^6 células CT26 en el flanco contralateral el Día 99 del estudio, 70 días después de que se administrara la última dosis de AIP-192482-mlgG2a. Paralelamente, se inocularon a 20 ratones BALB/c de la misma edad sin tratamiento previo con anticuerpos 1×10^6 células CT26 en el Día 99 de estudio como control. No se administraron dosis del artículo de ensayo en el nuevo pulso. Los ratones BALB/c de control sin tratamiento previo a los que se inocularon células CT26 mostraron un crecimiento tumoral rápido. Por el contrario, los
- 10 21 ratones que habían respondido con CR a la administración anterior de AIP-192482-mlgG2a permanecieron libres de tumores después del nuevo pulso, lo que indica que la administración de AIP-192482-mlgG2a puede producir una respuesta antitumoral duradera y memoria inmunológica en el modelo de tumor de ratón singénico CT26 después de la administración en cualquier nivel de dosis de AIP-160470-mlgG2a en combinación con anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón en comparación con la monoterapia respectiva con AIP-160470-mlgG2a, de 4 CR a 10 CR a 2,5 mg/kg y de 4 CR a 8 CR a 5 mg/kg de AIP-160470-mlgG2a.

Conjuntamente, los datos de estos indican que la administración de variantes de ATRC-101 tiene actividad antitumoral en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c y que la actividad se potencia en combinación con el bloqueo de PD-1.

Eficacia de las variantes de ATRC-101 en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALBc

- 20 Se realizaron dos estudios, EFF-031 y EFF-039, para evaluar la eficacia antitumoral de las variantes quiméricas de mlgG2a de ATRC-101 en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c. En ambos estudios, se inocularon a ratones BALB/c por vía subcutánea 1×10^6 de la línea de células de carcinoma de colon de ratón CT26 y la administración del artículo de ensayo se inició cuando se establecieron los tumores. Las comparaciones estadísticas entre los volúmenes tumorales de diferentes grupos de tratamiento se realizaron mediante la prueba de suma de
- 25 rangos de Wilcoxon de los parámetros NAAC y NGRM desarrollados en Atreca, Inc.

- En el Estudio EFF-031, se usó el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c para evaluar el impacto de (i) AIP-192482-mlgG2a, (ii) AIP-133645-mlg2a o (iii) AIP-160470-mlgG2a, dosificados IP a 20 mg/kg tres veces por semana durante 3 semanas, sobre el volumen tumoral y la supervivencia. En este estudio, los tres artículos de ensayo mostraron una eficacia antitumoral significativa y un beneficio en la supervivencia en comparación con un grupo de control de vehículo dosificado con DPBS.
- 30

- En el Estudio EFF-039, los ratones BALB/c con tumores CT26 subcutáneos establecidos (volumen tumoral medio del grupo de aproximadamente 145 mm^3) fueron aleatorizados a grupos de tratamiento el Día 9 del estudio. Los ratones se dosificaron IP de 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a (40 ratones) o vehículo (DPBS; 20 ratones) los Días 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27 y 29. Los tumores en el grupo de control de vehículo mostraron un rápido crecimiento de los volúmenes tumorales (FIG. 59A). La actividad antitumoral de AIP-192482-mlgG2a fue significativamente mayor que en el grupo de control de vehículo ($p=1,21 \times 10^{-10}$ para NAAC y $p=1,63 \times 10^{-11}$ para NGRM). Se observó un beneficio significativo en la supervivencia en el grupo de tratamiento con AIP-192482-mlgG2a en comparación con el control de vehículo.
- 35

- Los animales dosificados con AIP-192482-mlgG2a se observaron hasta el Día 97 para evaluar la durabilidad de la respuesta. Sobre el Día 97, el grupo al que se le había administrado AIP-192482-mlgG2a mostró CR en 21 de 40 ratones (FIG. 59B).
- 40

- Se inocularon a los animales con CR 1×10^6 células CT26 en el flanco contralateral el Día 99 del estudio, 70 días después de que se administrara la última dosis de AIP-192482-mlgG2a. Paralelamente, se inocularon a 20 ratones BALB/c de la misma edad sin tratamiento previo con anticuerpos 1×10^6 células CT26 en el Día 99 del estudio como control. No se administraron dosis del artículo de ensayo en el nuevo pulso. Los ratones de control BALB/c sin tratamiento previo inoculados con células CT26 mostraron un crecimiento tumoral rápido. Por el contrario, los
- 45 21 ratones que habían respondido con CR a la administración anterior de AIP-192482-mlgG2a permanecieron libres de tumores después del nuevo pulso, lo que indica que la administración de AIP-192482-mlgG2a puede producir una respuesta antitumoral duradera y memoria inmunológica en el modelo de tumor de ratón singénico CT26-BALB/c.

- #### *Eficacia de la variante AIP-192482-mlgG2a de ATRC-101 sola y en combinación con el bloqueo de PD-1 en modelos de tumor de ratón singénico E0771*
- 50

- Se usó el modelo de tumor de ratón singénico E0771-C57BL/6 para evaluar el impacto de la administración de AIP-192482-mlgG2a en los volúmenes tumorales cuando se administró solo o en combinación con un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón (clon RMP1-14, BioXCell), en el estudio EFF-006. Se inocularon a ratones C57BL/6 por vía subcutánea 1×10^6 células de la línea celular de adenocarcinoma de mama medular de ratón E0771. Cuatro grupos de ratones hembra con tumores E0771 subcutáneos establecidos se aleatorizaron en grupos de tratamiento de 20 ratones por grupo en el Día 8 del estudio, con un volumen tumoral medio de aproximadamente 104 mm^3 en cada grupo. Los ratones se dosificaron IP con 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a o vehículo (DPBS) los Días 9, 13, 16,
- 55

20, 23, 27 y 30. Los ratones también se dosificaron IP con 2,5 mg/kg de anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón o vehículo (DPBS) los Días 9, 13, 16 y 20. Las comparaciones estadísticas entre los volúmenes tumorales de diferentes grupos de tratamiento se realizaron mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de los parámetros NAAC y NGRM desarrollados en Atreca, Inc.

- 5 En este estudio, la administración de AIP-192482-mlgG2a o anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón solo condujo a un retraso en el crecimiento de los volúmenes tumorales en algunos animales, pero no condujo a una reducción significativa en el volumen tumoral en comparación con el control de vehículo (FIG. 60). La administración de AIP-192482-mlgG2a en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón condujo a una reducción significativa en los volúmenes tumorales en comparación con la administración del vehículo ($p=0,0176$ para NAAC y $p=0,0007$ para NGRM), administración de anti-PD-1 de ratón solo ($p=0,0455$ para NAAC y $p=0,00194$ para NGRM), y administración de AIP-192482-mlgG2a solo ($p=0,0262$ para NGRM).

Estos resultados indican que la administración de una variante de ATRC-101 en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 de ratón aumenta la eficacia antitumoral en comparación con las monoterapias respectivas en el modelo de tumor de ratón singénico E0771-C57BL/6.

- 15 *Impacto de las células T huésped en la eficacia antitumoral de AIP-192482-mlgG2a en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c*

Se usaron modelos de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c para evaluar la contribución potencial de las células T a la eficacia antitumoral del anticuerpo parental AIP-192482-mlgG2a, que tiene actividad antitumoral en el modelo de tumor singénico de ratón EMT6-BALB/c.

- 20 En el Estudio TMD04, se evaluó la eficacia antitumoral de AIP-192482-mlgG2a en presencia o ausencia de un anticuerpo anti-CD8 α de ratón, que depleciona las células T CD8 $^{+}$ de ratón. Para evaluar la eficacia antitumoral, se inocularon a ratones BALB/c por vía subcutánea células EMT6. Una vez que se establecieron los tumores, los ratones se dosificaron dos veces por semana con (i) el anticuerpo anti-CD8 α de ratón que depleciona las células T o vehículo (DPBS) y (ii) AIP-192482-mlgG2a o control de vehículo (DPBS). En este estudio, la administración de AIP-192482-mlgG2a condujo a una reducción significativa en el crecimiento tumoral en ausencia de anticuerpos anti-CD8 α de ratón con actividad de depleción ($p<0,0001$ para la comparación de NAAC y NGRM; FIG. 61). Cuando se administró el anticuerpo anti-CD8 α de ratón, se suprimió la eficacia antitumoral de AIP-192482-mlgG2.

- 30 En el Estudio EMT6-ATRC-e002, se evaluó la eficacia antitumoral de AIP-192482-mlgG2a en ratones desnudos BALB/c portadores de tumores EMT6 (BALB/c^{nu/nu} (CAnN.Cg-Foxn1^{nu}/Crl)), que carecen de células T. Se inocularon a ratones desnudos BALB/c por vía subcutánea células EMT6. A partir de los 7 días posteriores a la inoculación del tumor (volúmenes tumorales medios de los grupos entre 80 mm³ y 150 mm³), los ratones se dosificaron tres veces por semana con (i) 10 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a, (ii) 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a o (iii) vehículo de control (DPBS). Los animales en los tres grupos de tratamiento mostraron una rápida progresión de los volúmenes tumorales hasta el Día 25 del estudio, sin impacto de la administración de AIP-192482-mlgG2a en los volúmenes tumorales.

- 35 Conjuntamente, los datos de ambos experimentos indican que las células T, muy probablemente las células T CD8 $^{+}$, son necesarias para la actividad antitumoral de AIP-192482-mlgG2a en modelos de ratón.

Impacto de AIP-192482-mlgG2a en el microambiente tumoral en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c

El impacto de la administración del anticuerpo parental AIP-192482-mlgG2a en el TME se evaluó en el modelo de tumor de ratón singénico EMT6-BALB/c en donde AIP-192482-mlgG2a tiene actividad antitumoral.

- 40 Como parte del estudio EFF-004, se evaluó el TME mediante inmunofluorescencia en tumores recogidos de ratones dosificados IP de 20 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a o vehículo (DPBS) los Días 7, 10, 14, 18 y 21. El Día 15, después de la administración de 3 dosis de AIP-192482-mlgG2a o vehículo, la proporción de células T CD8 $^{+}$ en tumores de ratones dosificados con AIP-192482-mlgG2a fue significativamente mayor que en tumores de ratones dosificados con vehículo ($p<0,05$ por la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (FIG. 62). De manera similar, la proporción de macrófagos positivos para iNOS (óxido nítrico sintasa inducible), polarizados M1 proinflamatorios en tumores de ratones dosificados con AIP-192482-mlgG2a fue significativamente mayor el Día 15 que en tumores de ratones dosificados con vehículo ($p<0,01$ por prueba t no apareada; (FIG. 62).

- 50 El Día 22, después de la administración de 5 dosis de AIP-192482-mlgG2a o vehículo, la proporción de células T reguladoras (Treg) CD4 $^{+}$ FoxP3 $^{+}$ en tumores de ratones dosificados con AIP-192482-mlgG2a fue significativamente menor que en tumores recogidos de ratones que habían sido dosificados con vehículo.

- 55 Como parte de un estudio (Estudio TMD04), en el que los ratones BALB/c con tumores EMT6 establecidos se dosificaron IP dos veces por semana con 10 mg/kg de AIP-192482-mlgG2a o vehículo. En este estudio, la mayoría de los ratones dosificados con AIP-192482-mlgG2a fueron sacrificados al finalizar el estudio el Día 26 y la mayoría de los ratones tratados con vehículo fueron sacrificados cuando alcanzaron un volumen tumoral ≥ 2.000 mm³ entre los Días 25 y 27. Los tumores se recogieron después de la eutanasia y se disociaron, y las preparaciones de células resultantes se tiñeron para evaluar la presencia de subconjuntos linfoides y mieloides dentro del tumor mediante citometría de flujo.

Se observó un aumento significativo en las proporciones de células T CD8+, células T CD4+, células asesinas naturales (NK), células dendríticas, Treg y células supresoras derivadas de mieloides monocíticas (M-MDSC) entre tumores de ratones dosificados con AIP-192482 -mIgG2a en comparación con tumores de ratones dosificados con vehículo. Por el contrario, se redujeron las poblaciones de macrófagos F4/80+ y células supresoras derivadas de mieloides granulocíticas (G-MDSC), cada una de las cuales mostró reducciones de más de 10 veces en tumores de ratones dosificados con AIP-192482-mIgG2a en comparación con tumores de ratones dosificados con vehículo.

Conjuntamente, los tipos de células identificados por inmunofluorescencia en muestras de tejido y por citometría de flujo de suspensiones celulares indican que la unión de la diana de ATRC-101 da como resultado un cambio en la proporción y naturaleza de las poblaciones de células linfoides y mieloides en el TME de aquellas predominantemente asociadas con propiedades protumorigénicas e inmunosupresoras hacia aquellas que están más estrechamente asociadas con propiedades antitumorigénicas y proinflamatorias.

Farmacodinamia secundaria

La especificidad y la selectividad de ATRC-101 se evaluaron usando un sistema de cribado de expresión celular en matriz (Retrogenix, Whaley Bridge, High Peak, Reino Unido). Los sistemas de cribado de expresión de células en matriz se han usado para evaluaciones de especificidad e identificación de dianas. El anticuerpo parental AIP-192482, expresado como IgG1 humana (AIP-192482-hIgG1) evaluado en este estudio, no mostró unión de fondo a las células HEK293 usadas.

Se cribó AIP-192482-hIgG1 a una concentración de 2 µg/mL en células HEK293 fijadas en matriz, cada una de las cuales expresaba una de las 3.559 proteínas de membrana plasmática humana de longitud completa. Las matrices duplicadas se ensayaron en un cribado primario, así como en un cribado de confirmación/especificidad. No se observó unión específica de AIP-192482-hIgG1 a ninguna de las proteínas expresadas. Los resultados indican que ATRC-101 no se une específica ni selectivamente a ninguna de las 3.559 proteínas de membrana plasmática humana que constituyen la biblioteca analizada.

Farmacología de seguridad

ATRC-101 es un anticuerpo monoclonal con un mecanismo selectivo destinado a tratar a pacientes con cáncer y no pertenece a una clase de fármaco o sustancia química que se espera que cause efectos cardiovasculares. Como se detalla en las pautas S6 (R1), S7A y S9 de la ICH, no se requieren estudios farmacológicos de seguridad específicos para los productos derivados de la biotecnología que logran un direccionamiento específico del receptor, tales como los anticuerpos monoclonales para productos farmacéuticos contra el cáncer.

Además, el ratón y el mono cynomolgus no son especies apropiadas para estudios de toxicología o farmacología de seguridad debido a que la expresión de la diana de ATRC-101 es nula o muy baja en tejidos normales. No obstante, se realizó un estudio exploratorio de toxicidad intravenosa de 4 semanas en monos cynomolgus y no se observaron efectos fuera de la diana (evaluados mediante observaciones clínicas de rutina, patología clínica, citoquinas, evaluaciones macroscópicas y microscópicas) con dosis de ATRC-101 ≤ 100 mg/kg (rango AUC de 185.000 a 186.000 hr·µg/mL). Tampoco se observaron efectos adversos no relacionados con la diana (evaluados mediante observaciones clínicas de rutina, patología clínica, citoquinas, evaluaciones macroscópicas y microscópicas) en un modelo de tumor singénico EMT6-BALB/c a niveles de dosis de ATRC-101 y MFC-042 ≤ 30 mg/kg (la concentración sérica más alta de 295 µg/mL y 290 µg/mL en ratones portadores de tumores, respectivamente).

Sobre la base de los datos de inmunoprecipitación y espectroscopia de masas, ATRC-101 reconoce una diana que es un complejo que contiene miembros de la familia de proteínas de unión a poliadenilato humano y ARN poli(A). ATRC-101 se une con afinidad nanomolar a complejos reconstituidos *in vitro* que contienen ARN poli(A) transcrito *in vitro* y (i) PABPC-1 humano/de primate no humano recombinante o (ii) PABPC-1 de ratón recombinante.

Mientras que PABPC-1 y el ARN poli(A) están ampliamente presentes en las células normales, la diana de ATRC-101 parece estar asociada con tumor. La unión selectiva de tumores a la diana de ATRC-101 se observó en una variedad de tipos de tumores humanos, incluidos NSCLC, cáncer de mama, CRC, cáncer de ovario y melanoma, donde los núcleos tumorales fueron positivos, pero los tejidos adyacentes no. De manera similar, la diana de ATRC-101 se detecta en núcleos tumorales EMT6 de ratón, pero no en tejidos adyacentes. La unión a células tumorales EMT6 de ratón extraídas de núcleos tumorales se pierde con el tiempo cuando estas células se cultivan *in vitro*. Además, se mostró que la unión a la diana de ATRC-101 en núcleos de tumores humanos depende del componente del complejo sensible a la ARNasa.

En tejidos humanos normales, tejidos de mono cynomolgus normales y la mayoría de los tejidos de ratón normales, las evaluaciones farmacológicas no revelaron una unión definitiva a la diana de ATRC-101. En un estudio de reactividad cruzada de tejido GLP en tejidos humanos normales, se observó tinción con ATRC-101 en algunos tejidos humanos. Sin embargo, prácticamente toda la tinción detectada era de naturaleza citoplásmica con la singular excepción de una tinción rara y escasa observada en las células epiteliales tubulares distales del riñón humano. Los hallazgos no se consideran toxicológicamente relevantes.

En general, las evaluaciones de farmacología y toxicología indican que la diana de ATRC-101 está asociada con el

tumor y que la localización en la superficie celular depende del contexto del crecimiento del tumor *in vivo*. La base de la asociación tumoral de la diana de ATRC-101 y la selectividad de ATRC-101 siguen en estudio.

ATRC-101 y las variantes quiméricas de ATRC-101 muestran actividad antitumoral en modelos de tumores de ratón singénicos EMT6, CT26 y E0771, sin signos de toxicidad. Las variantes de ATRC-101 muestran una mayor actividad antitumoral en combinación con el bloqueo de PD-1. La actividad antitumoral de las variantes de ATRC-101 depende de la función efectora de Fc y de la presencia de células T huésped y está asociada con cambios antitumorogénicos y proinflamatorios en el TME. ATRC-101 no parece actuar a través de los mecanismos ADCC o CDC. ATRC-101 no se une a las PBMC humanas *in vitro* y no parece causar la liberación de citoquinas en ensayos *in vitro* en PBMC y sangre completa.

Sobre la base de estas observaciones *in vivo* e *in vitro*, se propone que el candidato clínico ATRC-101 provoca la inhibición y regresión del crecimiento tumoral, en parte, al (a) alterar la composición del microentorno tumoral para que sea más antitumorogénico y proinflamatorio, e (b) inducir una respuesta inmune adaptativa que recluta células T CD8+ efectoras para atacar los tumores.

Sobre la base de la unión selectiva a tumores en carcinomas y melanomas humanos y la actividad antitumoral en modelos de ratones, ATRC-101 se selecciona para la administración a un paciente para el tratamiento de tumores sólidos avanzados.

Ejemplo 14. Toxicología

Los estudios de seguridad no clínicos de ATRC-101 consistieron en evaluaciones *in vitro* de ATRC-101 utilizando células y tejidos humanos y estudios *in vivo* en animales en un modelo de enfermedad en ratones para evaluar la toxicidad potencial relacionada con la diana y en monos cynomolgus para abordar la toxicidad potencial relacionada con la diana y la toxicidad fuera de la diana, respectivamente. Esta estrategia de seguridad no clínica es coherente con las recomendaciones detalladas en ICH S6 (R1), así como ICH S9 y se considera apropiada para evaluar el perfil de seguridad de ATRC-101. El alcance de la evaluación toxicológica fue apropiado para respaldar su uso clínico propuesto para el tratamiento del cáncer.

El alcance de la evaluación toxicológica de ATRC-101 demostró un perfil de seguridad aceptable y respalda la primera dosificación en seres humanos en pacientes con cáncer. La dosis inicial humana propuesta es de 0,3 mg/kg, que es 8 veces menor que el NOAEL (30 mg/kg; dosis equivalente humana (HED) = 2,4 mg/kg) en el estudio de cáncer de mama singénico EMT6 y se espera que proporcione un margen de seguridad adecuado para la dosis clínica de partida.

El estudio de reactividad cruzada en tejido humano se realizó de conformidad con las normas BPL. Los estudios que no cumplen con las BPL se realizaron según las pautas de la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) usando buenas prácticas científicas y siguiendo los procedimientos operativos estándar (SOP) aplicables de la instalación de ensayo y los sitios aplicables.

Toxicidad de dosis única

No se realizó un estudio de toxicidad de dosis única. Sin embargo, se llevó a cabo un estudio de farmacocinética (PK) y tolerabilidad de un bolo IV de dosis única con un período de observación de 4 semanas en monos cynomolgus. En este estudio, la administración de ATRC-101 fue bien tolerada en monos cynomolgus a niveles de dosis de hasta 30 mg/kg.

Toxicidad por dosis repetidas

Teniendo en cuenta que la diana de ATRC-101 está asociada con tumores con expresión nula o muy baja en tejidos animales normales, se evaluó la posible toxicidad relacionada con la diana de ATRC-101 en un modelo de cáncer de mama singénico EMT6-BALB/c de dosis repetidas. Además, se realizó un estudio de toxicidad de dosis repetidas que no cumplía con las BPL en monos cynomolgus para evaluar la posible toxicidad no relacionada con la diana de ATRC-101.

Evaluaciones preclínicas de eficacia y seguridad de ATRC-101 y MFC-042 en el modelo de cáncer de mama singénico EMT6 (Estudios ATRC-101.PD.18.01 y ATRC-101.PD.18.02)

Los parámetros de seguridad se incorporaron en este estudio preclínico de evaluación de eficacia y seguridad en el modelo de cáncer de mama singénico EMT6-BALB/c de ratón para evaluar la posible toxicidad relacionada con la diana de ATRC-101 y MFC-042 (que alberga una región Fv humana idéntica de ATRC-101, pero expresada con una región Fc de IgG2a de ratón). Este estudio constaba de dos partes que se realizaron simultáneamente: evaluación de MFC-042 (Parte A; ATRC-101.PD.18.01) y ATRC-101 (Parte B; ATRC-101.PD.18.02).

En la Parte A del estudio, siete grupos de ratones hembra BALB/c (15 animales/grupo) con tumores EMT6 subcutáneos establecidos (volúmenes tumorales medios (MTV) de grupo = 112 a 113 mm³) se dosificaron mediante inyección IP con 0 (vehículo), 0,1, 0,3, 1, 3, 10 o 30 mg/kg de MFC-042 en los Días 1, 4, 8, 11 y 15. Dos grupos de no portadores de tumores (sin tratamiento previo) (15 animales/grupo) se trataron con vehículo o 30 mg/kg de MFC-042 con el mismo régimen de dosis. Los animales fueron sacrificados para exámenes de necropsia el Día 16.

En la Parte B del estudio, cuatro grupos de ratones hembra BALB/c (15 animales/grupo) con tumores EMT6 subcutáneos establecidos (MTV del grupo = 108 mm³) se dosificaron mediante inyección IP con 0 (vehículo), 3, 10 o 30 mg/kg de ATRC-101 los Días 1, 4, 8, 11 y 15. Dos grupos de ratones sin tratamiento previo (15 animales/grupo) se trataron con vehículo o 30 mg/kg de ATRC-101 en el mismo régimen de dosis. Los animales fueron sacrificados para exámenes de necropsia el Día 16.

Los parámetros evaluados en este estudio incluyeron mortalidad/moribundez, signos clínicos, pesos corporales, evaluaciones generales de eficacia, patología clínica (hematología y química clínica), concentraciones de artículos de ensayo en suero, análisis de citoquinas en suero, hallazgos macroscópicos de necropsia, pesos de órganos y exámenes microscópicos (cerebro, corazón, pulmón, hígado, riñón, páncreas, bazo, estómago y ganglios linfáticos, así como tejido tumoral en animales portadores de tumores).

Las dosis repetidas de ATRC-101 a ≥ 10 mg/kg o MFC-042 a ≥ 3 mg/kg a ratones portadores de tumores inhibieron significativamente el crecimiento de tumores mamarios singénicos EMT6-BALB/c. En estos grupos, la inhibición del crecimiento tumoral, a menudo con evidencia de regresión tumoral, alcanzó o superó el umbral de actividad terapéutica potencial.

No hubo mortalidad relacionada con ATRC-101 o MFC-042 en el estudio. No hubo observaciones clínicas adversas ni efectos sobre el peso corporal relacionados con ATRC-101 o MFC-042. No se observaron efectos toxicológicamente significativos en los parámetros de hematología y química clínica. No hubo observaciones patológicas macroscópicas ni cambios notables en el peso de los órganos en los ratones sacrificados el Día 16.

Los niveles de citoquinas y las tendencias observadas después de la administración de ATRC-101 y MFC-042 estuvieron dentro de la respuesta biológica esperada de la administración de proteínas humanas a un modelo de tumor de ratón y/o estuvieron relacionados con la actividad antitumoral de los artículos de ensayo y, por lo tanto, no se consideraron adversos.

Microscópicamente, las masas tumorales recogidas en la necropsia estaban compuestas de células neoplásicas dispuestas en sargas y haces. En general, se observaron masas tumorales en todos los ratones inoculados con células tumorales EMT6. No hubo hallazgos microscópicos adversos relacionados con ATRC-101 o MFC-042 en la eutanasia terminal.

La administración IP de dosis repetidas de ATRC-101 a niveles de dosis de 0, 1, 10 y 30 mg/kg o MFC-042 a niveles de dosis de 0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 y 30 mg/kg, a los ratones BALB/c hembras sin tratamiento previo y portadores de tumores de cáncer de mama singénicos EMT6 fue bien tolerada y no se observaron efectos toxicológicamente significativos. Sobre la base de estos resultados de la evaluación de seguridad, se consideró que el NOAEL era de 30 mg/kg para ATRC-101 y MFC-042 en ratones BALB/c hembra sin tratamiento previo y portadores de tumor de cáncer de mama singénico EMT6. A este nivel de dosis, las concentraciones séricas más altas de ATRC-101 fueron 295 µg/mL y 281 µg/mL en ratones portadores de tumores y ratones sin tratamiento previo, respectivamente; las concentraciones séricas más altas de MFC-042 fueron 367 µg/mL y 533 µg/mL en ratones portadores de tumores y ratones sin tratamiento previo, respectivamente.

Un estudio toxicológico de búsqueda de rango de dosis de 4 semanas con ATRC-101 en monos cynomolgus (ATRC-101.TX.18.01)

El objetivo de este estudio fue determinar la toxicidad potencial no relacionada con la diana y la toxicocinética (TK) de ATRC-101 cuando se administra por infusión IV (30 minutos de duración) una vez por semana durante 4 semanas (Días 1, 8, 15 y 22.) a los monos cynomolgus. En el estudio, 8 monos sin tratamiento previo fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos (1 animal/sexo/grupo). Los animales se dosificaron una vez por semana con 0 (vehículo), 10, 30 o 100 mg/kg de ATRC-101 mediante una infusión IV de 30 minutos durante 4 semanas (4 dosis). El volumen de la dosis fue de 5 mL/kg.

En este estudio se evaluaron los siguientes parámetros: mortalidad/moribundez, signos clínicos, consumo cualitativo de alimentos, pesos corporales, patología clínica (hematología, química clínica y análisis de orina), citoquinas, parámetros TK, pesos de órganos, exámenes macroscópicos y microscópicos (20 órganos/tejidos, incluidos el cerebro, el corazón, los pulmones, el hígado, los riñones y el páncreas).

En la evaluación de TK, la C_{máx} se observó generalmente a las 0,75 horas (T_{máx}) después del inicio de la infusión (0,25 horas después del final de la infusión). La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después de T_{máx}. La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado. Aunque había 1 animal/sexo/grupo, el aumento parecía ser aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

La administración intravenosa de ATRC-101 una vez por semana a monos cynomolgus durante 4 semanas en dosis de 0, 10, 30 o 100 mg/kg/semana fue bien tolerada. Todos los animales sobrevivieron hasta la necropsia terminal (Día 29). No hubo cambios relacionados con ATRC-101 en los signos clínicos, el consumo cualitativo de alimentos, los

pesos corporales, los parámetros de patología clínica o la mayoría de las citoquinas. No hubo hallazgos de patología macroscópica relacionados con ATRC-101, hallazgos definitivos de peso de órganos o hallazgos microscópicos.

La administración de ATRC-101 por infusión IV una vez por semana durante 4 semanas fue bien tolerada en monos cynomolgus en todos los niveles de dosis administrados: 10, 30 y 100 mg/kg/semana. Se consideró que el NOAEL era de 100 mg/kg/semana, con valores de $C_{\text{máx}}$ asociada de 2.410 µg/mL para machos y 2.690 µg/mL para hembras, y valores de AUC_{0-t} de 185.000 µg·hr/mL para machos y 186.000 µg·hr/mL para hembras en el Día 22.

Tolerancia local

La tolerancia local de ATRC-101 se evaluó en el estudio de toxicidad de dosis repetidas de 4 semanas sin BPL en monos cynomolgus (ATRC-101.TX.18.01). No hubo evidencia clínica de irritación o problemas de tolerancia local en los sitios de inyección de ATRC-101 después de la dosificación repetida (IV, una vez por semana para 4 dosis en total) en dosis de hasta 100 mg/kg con una concentración de ATRC-101 de 20 mg/mL.

Otros estudios de toxicidad

Estudio de reactividad cruzada tisular de ATRC-101 en tejidos humanos normales (ATRC-101.TX.19.01)

Se llevó a cabo un estudio de reactividad cruzada de tejidos BPL en tejidos humanos normales para evaluar la posible reactividad cruzada de ATRC-101 (2 y 10 µg/mL) con criosecciones de un panel completo de 34 tejidos humanos normales (3 donantes por tejido).

ATRC-101 produjo una tinción de débil a fuerte de citoplasma y gránulos citoplasmáticos de células neoplásicas raras de control positivo en el tumor mamario humano 016327T2 en ambas concentraciones. ATRC-101 no reaccionó específicamente con los fibroblastos estromales de control negativo en el tumor mamario humano 016327T2 en ninguna de las concentraciones de tinción. El artículo de control, IgG1 humana, no reaccionó específicamente con los elementos de tejido de control positivo o negativo. Tampoco hubo tinción de los portaobjetos de control del ensayo. Las reacciones específicas de ATRC-101 en todas las series de tinción con el material de control positivo y la falta de reactividad específica con el material de control negativo, así como la falta de reactividad del artículo de control, indicaron que el ensayo fue sensible, específico y reproducible.

Se observó tinción de membrana y citoplasmática con ATRC-101 en epitelio tubular (débil-fuerte, raro) en el riñón. Se observó tinción citoplasmática en el epitelio (débil-fuerte, variablemente frecuente) en la trompa de Falopio (mucosa), páncreas (conductos, acinos), glándula salival (ácinos), tiroides (folículos, células parafoliculares) y útero (endometrio); células mononucleares (débil-moderada, rara) en el intestino delgado; mioepitelio (débil-moderada, rara-ocasional) en la mama; células de los islotes (débil-moderada, muy rara) en el páncreas; neuronas (débil-intensa, rara-ocasional) en el cerebro (cerebelo, cerebro) y médula espinal; células retinales (débil-fuerte, ocasional) en la capa plexiforme externa del ojo; células/procesos asociados con los nervios periféricos (débil-fuerte, muy rara-ocasional) en la vejiga, mama, ojo, tracto gastrointestinal (esófago, intestino delgado [células ganglionares]), piel, médula espinal (raíces nerviosas espinales), músculo estriado (esquelético); pituitarios (débil-moderada, frecuente) en la neurohipófisis hipofisaria. La localización subcelular de la tinción del neuropilo (débil-moderada, frecuente) en el cerebro humano (cerebelo, cerebro) no pudo identificarse con la resolución de un microscopio óptico.

En resumen, se observó tinción con ATRC-101 en algunos tejidos humanos. Sin embargo, prácticamente toda la tinción con ATRC-101 fue de naturaleza citoplasmática, y la unión de anticuerpos monoclonales a sitios citoplasmáticos en estudios de reactividad cruzada tisular generalmente se considera de poca o ninguna importancia toxicológica debido a la capacidad limitada de los fármacos de anticuerpos para acceder al compartimento citoplasmático *in vivo* (Hall et al, 2008; Leach et al, 2010). La tinción de membrana con ATRC-101 se restringió a células epiteliales tubulares raras (1-5 % de las células) en el riñón humano. Por lo tanto, no se prevé que esta tinción sea toxicológicamente significativa. La localización subcelular de la tinción del neuropilo en el cerebro humano no pudo identificarse con la resolución de un microscopio óptico; sin embargo, no se prevé que esta tinción sea toxicológicamente significativa ya que este elemento tisular está protegido por la barrera hematoencefálica.

Hallazgos toxicológicos no clínicos

ATRC-101 se une a una versión asociada a tumor de un complejo que contiene un miembro de la familia de proteínas de unión a poliadenilato y ARN poli(A). Se considera que este anticuerpo presenta un bajo riesgo de desencadenar la liberación de citoquinas en seres humanos según resultados *in vitro* del estudio de liberación de citoquinas y unión de PBMC humanas. Se realizó una batería completa de estudios de toxicidad no clínica para establecer el perfil toxicológico de ATRC-101.

La toxicidad potencial relacionada con la diana de ATRC-101 se evaluó en un estudio preclínico de eficacia y seguridad en el modelo de ratón de cáncer de mama singénico EMT6-BALB/c. En este estudio, la administración de ATRC-101 a niveles de dosis de 0, 1, 10 y 30 mg/kg o MFC-042 (región Fv humana idéntica de ATRC-101 en una región Fc de IgG2a de ratón) a niveles de dosis de 0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 y 30 mg/kg, a ratones sin tratamiento previo y portadores de tumores de cáncer de mama singénicos EMT6-BALB/c, se toleró bien y no se observaron efectos toxicológicamente significativos. Se consideró que el NOAEL era de 30 mg/kg para ATRC-101 y MFC-042 en ratones BALB/c hembra

sin tratamiento previo y portadores de tumores. A este nivel de dosis, las concentraciones séricas más altas de ATRC-101 fueron de 295 µg/mL y 281 µg/mL en ratones portadores de tumores y ratones sin tratamiento previo, respectivamente; las concentraciones séricas más altas de MFC-042 fueron 367 µg/mL y 533 µg/mL en ratones portadores de tumores y ratones sin tratamiento previo, respectivamente.

- 5 La toxicidad potencial no relacionada con la diana de ATRC-101 se evaluó en un estudio de toxicidad de dosis repetidas de 4 semanas en monos cynomolgus. La administración de ATRC-101 por infusión IV una vez por semana durante 4 semanas fue bien tolerada en monos cynomolgus en todos los niveles de dosis administrados: 10, 30 y 100 mg/kg/semana. Se consideró que el NOAEL era de 100 mg/kg/semana, con valores de $C_{\text{máx}}$ de 2.410 µg/mL para machos y 2.690 µg/mL para hembras, y valores de AUC_{0-t} de 185.000 µg·hr/mL/mL para machos y 186.000 µg·hr/mL para hembras en el Día 22.

- 15 En un estudio de reactividad cruzada de tejido BPL en tejidos humanos normales, se observó tinción con ATRC-101 en algunos tejidos humanos. Sin embargo, prácticamente toda la tinción fue de naturaleza citoplasmática y no es una preocupación toxicológica porque es poco probable que ATRC-101 atraviese las membranas celulares o interaccione directamente con los componentes del citoplasma. La tinción asociada a la membrana con ATRC-101 se restringió a células epiteliales tubulares raras (1-5 % de las células) en el riñón humano. Dada la rareza de la frecuencia de tinción, no se prevé que esta tinción sea toxicológicamente significativa. Además, ATRC-101 (i) no parece mediar ni en ADCC ni en CDC, (ii) no se encontró que la unión de ATRC-101 a su diana desencadene o suprima ninguna vía de transducción de señales, (iii) y cualquier toxicidad renal potencial será monitorizada por análisis de orina y química clínica en el ensayo clínico propuesto. Tomados en conjunto, la tinción de la membrana observada en células epiteliales tubulares raras en el estudio de reactividad cruzada tisular *in vitro* se considera de bajo riesgo para la seguridad del paciente.

En conjunto, los resultados de los estudios toxicológicos no clínicos demuestran un perfil de seguridad aceptable y respaldan la progresión de ATRC-101 a estudios clínicos en pacientes con cáncer.

Base racional de la dosis en seres humanos

- 25 La base racional científica para elegir la dosis inicial en seres humanos de 0,3 mg/kg se basa en una evaluación integrada de todos los datos farmacológicos, PK y toxicológicos no clínicos disponibles del ATRC-101, así como en la bibliografía disponible. A la dosis inicial en seres humanos propuesta de 0,3 mg/kg, se espera que la $C_{\text{máx}}$ sea de aproximadamente 7,81 µg/mL y se espera que la AUC_{0-672h} sea de 53,1 día·µg/mL según las simulaciones de dosis humana de ATRC-101.
- 30 La dosis inicial propuesta de 0,3 mg/kg proporciona un margen de seguridad sustancial con respecto a la dosis NOAEL de 30 mg/kg, determinada en el estudio preclínico de eficacia y seguridad de dosis repetidas en ratones hembra BALB/c portadores de tumores de cáncer de mama EMT6. La dosis inicial en seres humanos de 0,3 mg/kg es 1/8 del NOAEL (30 mg/kg en ratones = 2,44 mg/kg de dosis equivalente en humanos). Esto proporciona un margen de seguridad de aproximadamente 47 veces respecto a la $C_{\text{máx}}$ esperada (7,81 µg/ml) en seres humanos a la dosis inicial propuesta de 0,3 mg/kg.

Ejemplo 15. Farmacocinética

- En el estudio PK de dosis única, 6 monos cynomolgus sin tratamiento previo (3 machos y 3 hembras) se asignaron aleatoriamente a 3 grupos de dosis y se les administró ATRC-101 a 1, 10 o 30 mg/kg mediante inyección intravenosa (IV) en bolo. Los animales se observaron durante 28 días después de la administración de ATRC-101. Se recogieron muestras de suero en diferentes puntos de tiempo y se analizaron mediante un método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para determinar la concentración de ATRC-101.

- Después de una única administración IV, las concentraciones séricas máximas ($C_{\text{máx}}$) se observaron entre 0,083 y 1 hora después de la dosis excepto para la hembra a 1 mg/kg donde se observó 8 horas después de la dosis. Las semividas ($T_{1/2}$) variaron de 177 a 225 horas. La tasa de aclaramiento aparente (CL) y el volumen de distribución aparente (Vd) variaron entre 0,159 y 0,436 mL/h/kg y entre 51,4 y 117 mL/kg, respectivamente. La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado. El aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis excepto para las hembras entre 1 y 10 mg/kg donde el aumento fue menor que proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el sexo en la exposición, excepto a 1 mg/kg, donde la exposición de las hembras fue dos veces mayor que la de los machos.

- 50 El perfil toxicocinético (TK) de ATRC-101 se evaluó en un estudio de toxicidad IV de dosis repetidas de 4 semanas en monos cynomolgus. Ocho (8) animales sin tratamiento previo (4 machos y 4 hembras) recibieron una infusión IV semanal (30 minutos) de ATRC-101 a 0, 10, 30 o 100 mg/kg para un total de 4 dosis. Se recogieron muestras de suero en diferentes puntos de tiempo y se analizaron mediante un método ELISA. Las concentraciones séricas máximas se observaron generalmente a las 0,75 horas después del inicio de la infusión (SOI). La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después del tiempo de $C_{\text{máx}}$ ($T_{\text{máx}}$). La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación

con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

Método de LC-MS/MS para medir la concentración de ATRC-101 en el suero de ratones BALB/c (ATRC-101.PD.18.02)

La concentración de ATRC-101 en el suero de ratones BALB/c se determinó usando un método de cromatografía líquida - espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). En el método, se midió PEP-1, un péptido característico digerido de ATRC-101, para determinar la concentración de ATRC-101 (la concentración de PEP-1 es equivalente a la de ATRC-101). En este ensayo, cada alícuota de 10 µL de muestra estándar, de control de calidad (QC), o muestra de estudio se mezcló con 25 µL de solución estándar interna de trabajo (25 µg/mL en agua), 15 µL de agua y 150 µL de tampón de digestión SMART (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Las muestras se centrifugaron brevemente y una alícuota de 200 µL del sobrenadante resultante se transfirió a microtubos de digestión SMART. Las muestras se agitaron con vórtex y se incubaron a 65 °C mientras se agitaban durante 2 horas. Se mezcló una alícuota de 200 µL de la mezcla de reacción con 5 µL de bisulfito de sodio al 20 %. La reacción se inactivó con 5 µL de ácido fórmico puro. Las muestras se agitaron con vórtex y se centrifugaron. Se transfirió una alícuota de 150 µL del sobrenadante resultante a una placa limpia de baja unión de 96 pocillos. Se inyectó una alícuota en un sistema LC-MS/MS para su análisis. El sistema de cromatografía líquida usó una columna Phenomenex XB-C18, 1,0 × 50 mm (tamaño de partícula de 2,7 µm) con un flujo de gradiente que consistía en agua/ácido fórmico (100/0,5, v/v) y acetonitrilo/ácido fórmico (100/0,5, v/v) a un caudal de 0,600 mL/minuto. El péptido característico y el estándar interno se detectaron usando un sistema de LC-MS/MS de triple cuadrupolo Waters Xevo TQ-S equipado con una fuente de ionización ESI (TurboIonSpray®) operada en el modo de iones positivos. Este método era aplicable a la cuantificación dentro de rangos de concentración nominal de 2 a 250 µg/mL para ATRC-101 a partir de una alícuota de suero de ratón BALB/c de 10 µL.

Método ELISA para medir la concentración de ATRC-101 en sueros de monos cynomolgus (ATRC-101.PK.18.01)

La concentración de ATRC-101 en sueros de monos cynomolgus se determinó usando un método ELISA. Este ensayo empleó una técnica de inmunoensayo cuantitativo. Brevemente, las placas de microtitulación se recubrieron con IgG antihumana de oveja para capturar ATRC-101. El ensayo se calibró usando una curva estándar generada a partir de once estándares dentro del rango preparado usando el anticuerpo humano ATRC-101 en concentraciones de 800, 400, 300, 200, 150, 100, 75, 50, 30, 20, 10 ng/mL, incluidos los puntos de anclaje a 10 y 800 ng/mL, en suero puro de mono cynomolgus. Las muestras de QC se prepararon en suero a una concentración de 250, 175 y 40 ng/mL de ATRC-101 en suero puro de mono cynomolgus. La regresión de datos del lector de microplacas se realizó usando Watson LIMS, versión 7.3.0.01. Se usó un modelo de 4 parámetros para ajustar la curva de calibración sigmoidea, con una ecuación de ponderación de $1/y^2$. Los estándares, las muestras de QC y las muestras de estudio se analizaron con una dilución mínima requerida de 5 veces y se determinaron las concentraciones de muestra en suero puro de mono (µg/mL). Se preparó un conjunto de muestras de QC antes y después de la preparación de los estándares, las muestras de ensayo y el blanco. La detección de ATRC-101 se logró con IgG antihumana de cabra (cadenas pesadas y ligeras) conjugada con peroxidasa de rábano picante. Se usó tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. El rango de cuantificación del método fue de 20 - 400 ng/mL.

La absorción de ATRC-101 se caracterizó en un estudio PK de bolo IV de dosis única y en un estudio de toxicidad de infusión IV de dosis repetidas en monos cynomolgus. La concentración en suero de mono de ATRC-101 se determinó mediante un método ELISA.

En el estudio farmacocinético de dosis única, 6 monos cynomolgus sin tratamiento previo (3 machos y 3 hembras) se asignaron aleatoriamente a 3 grupos de dosis y se les administró ATRC-101 a 1, 10 o 30 mg/kg mediante inyección en bolo IV. El $T_{\text{máx}}$ se observó generalmente entre 0,083 y 1 hora después de la dosis. El $T_{1/2}$ varió de 177 a 225 horas. El CL y Vd variaron entre 0,15 y 0,436 mL/h/kg y 51,4 y 117 mL/kg, respectivamente. La exposición sistémica a ATRC-101 aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis.

En el estudio toxicocinético IV de dosis repetidas de 4 semanas en monos cynomolgus, 8 animales sin tratamiento previo (4 machos y 4 hembras) se asignaron aleatoriamente a 4 grupos de dosis y se les administró una infusión IV semanal (30 minutos) de ATRC-101 a los 0, 10, 30 o 100 mg/kg para un total de 4 dosis. El $T_{\text{máx}}$ se observó generalmente a las 0,75 horas después de la SOI. La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después de $T_{\text{máx}}$. La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento fue aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

Un estudio farmacocinético de bolo intravenoso de dosis única de ATRC-101 en monos cynomolgus con un período de observación de 4 semanas (ATRC-101.PK.18.01)

El objetivo de este estudio fue evaluar la PK de ATRC-101 en monos cynomolgus después de la administración de una dosis única en bolo IV.

En este estudio, 6 animales sin tratamiento previo (1 animal/sexo/grupo) se asignaron aleatoriamente a 3 grupos y se les administró ATRC-101 a 1, 10 o 30 mg/kg una vez por inyección en bolo IV. ATRC-101 se formuló en histidina

20 mM, sacarosa al 8 %, polisorbato 80 al 0,02 % a pH 6,0 y luego se diluyó hasta la concentración diana para la dosificación. El volumen de la dosis fue de 3,0 mL/kg. Las muestras de farmacocinética se recogieron el Día 1 antes de la dosis, 5 minutos, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168, 240, 336, 504 y 672 horas después de la dosis. Las concentraciones séricas de ATRC-101 se determinaron mediante un método ELISA.

5 Los parámetros en este estudio incluyeron supervivencia, observaciones clínicas, pesos corporales, temperatura corporal, patología clínica (hematología y química sérica) y análisis PK. Todos los animales sobrevivieron hasta el final del estudio. No se observaron signos clínicos relacionados con ATRC-101. No hubo hallazgos relacionados con ATRC-101 en los pesos corporales, la temperatura corporal o la patología clínica. Las concentraciones séricas de ATRC-101 estuvieron por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ = 20 ng/mL) en todas las muestras recogidas en el
10 punto de tiempo previo a la dosis para los grupos tratados. Después de la administración de ATRC-101 el Día 1, ATRC-101 fue cuantificable durante el período de muestreo de 672 horas para los niveles de dosis evaluados. FIG. 63. La concentración en la hembra a la que se administró 1 mg/kg 8 horas después de la dosis fue mayor en comparación con la de 10 mg/kg (241 µg/mL frente a 129 µg/mL, respectivamente).

15 Después de la administración de ATRC-101, los $T_{\text{máx}}$ se observaron entre 0,083 y 1 hora después de la dosis, excepto para la hembra con un nivel de dosis de 1 mg/kg, donde la concentración máxima se observó 8 horas después de la dosis. Las concentraciones séricas máximas fueron seguidas por una disminución de ATRC-101 con $T_{1/2}$ que varió de 177 a 225 horas. El CL y Vd variaron entre 0,159 y 0,436 mL/hr/kg y entre 51,4 y 117 mL/kg, respectivamente.

20 La exposición sistémica a ATRC-101, según lo definido por $C_{\text{máx}}$ y el área bajo la curva desde el momento 0 hasta el momento del análisis (AUC_{0-t}), aumentó con la dosis dentro del rango ensayado. El aumento pareció ser aproximadamente proporcional a la dosis para los niveles de dosis evaluados excepto para las hembras entre 1 y 10 mg/kg donde el aumento fue menor que proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el sexo en la exposición, excepto en el nivel de dosis de 1 mg/kg, en donde la exposición de las hembras pareció ser dos veces mayor que la de los machos.

25 *Un estudio toxicológico de búsqueda de rango de dosis de 4 semanas con ATRC-101 en monos cynomolgus (ATRC-101.TX.18.01)*

El objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad potencial no relacionada con la diana y TK de ATRC-101 cuando se administra por infusión IV una vez por semana durante 4 semanas a monos cynomolgus.

30 En este estudio, 8 monos sin tratamiento previo fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos (1 animal/sexo/grupo). Los animales se dosificaron una vez semanalmente con 0 (vehículo), 10, 30 o 100 mg/kg de ATRC-101 mediante una infusión IV de 30 minutos durante 4 semanas (4 dosis). El volumen de la dosis fue de 5 mL/kg. Las muestras de toxicocinética se recogieron en una serie de puntos de tiempo en los Días 1 y 22. Las concentraciones séricas de ATRC-101 se determinaron mediante un método ELISA.

35 Las concentraciones séricas de ATRC-101 estuvieron por debajo del LLOQ (20 ng/mL) en todas las muestras previas a las dosis recogidas el Día -7, en todas las muestras recogidas en el grupo de control los Días 1 y 22, y en todas las muestras previas al punto de tiempo de la dosis para los grupos tratados en el Día 1. Después de la administración de ATRC-101 en los Días 1 y 22, ATRC-101 fue cuantificable durante el período de muestreo de 168 horas para todos los niveles de dosis. Las concentraciones séricas de ATRC-101 en los grupos de tratamiento con ATRC-101 se muestran en la FIG. 64.

40 Después de la administración de ATRC-101, el $T_{\text{máx}}$ se observó entre 0,75 y 4,5 horas posteriores a la SOI, lo que corresponde a 0,25 y 4 horas después del final de la infusión (EOI), con la mayoría de los casos encontrados a las 0,75 horas posteriores a la SOI (0,25 horas posteriores a EOI). La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después de $T_{\text{máx}}$.

45 La exposición sistémica a ATRC-101, según lo definido por $C_{\text{máx}}$ y AUC_{0-t} , aumentó con la dosis dentro del rango ensayado. Teniendo en cuenta que había 1 animal/sexo/grupo, el aumento parecía ser aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

50 El enfoque de modelado PK se usó para predecir los parámetros de PK de ATRC-101 en seres humanos. Las concentraciones sistémicas observadas frente al tiempo de ATRC-101 en el estudio ATRC-101.PK.18.01 se modelaron con un modelo PK estándar de 2 compartimentos y se escalaron alométricamente a seres humanos en función del peso corporal. Se realizaron simulaciones para obtener los cursos de tiempo de suero humano previstos después de dosis de 0,1, 0,3, 1, 3, 10 y 30 mg/kg, administradas una vez cada tres semanas durante 6 semanas. Las métricas de exposición en seres humanos se predijeron después de una única administración IV. A una concentración de 0,3 mg/kg la $C_{\text{máx}}$ en humanos se estima que alcanza 7,81 µg/mL y la $AUC_{0-672 \text{ hr}}$ se estima en 53,1 día·µg/mL.

55 Los parámetros de PK en seres humanos proyectados se correlacionaron con las concentraciones relevantes de los estudios de farmacología *in vitro* de la actividad en el ensayo de unión dual de diana y efector. En el ensayo de unión dual de diana y efector, se mostró que la mitad de la concentración efectiva máxima (CE_{50}) de ATRC-101 era 68 nM.

Las curvas de respuesta a la dosis de ATRC-101 en este ensayo se ajustaron a un modelo de regresión logística de cuatro parámetros para evaluar las concentraciones efectivas (CE_{20} , CE_{50} , y CE_{80}). Se estimó que un nivel de dosis de 0,3 mg/kg en seres humanos daría como resultado una $C_{m\acute{a}x}$ (7,81 $\mu\text{g/ml}$) por debajo de CE_{50} y lograr una concentración efectiva máxima del 20 % (CE_{20}) durante aproximadamente 6 días (~33 % del intervalo de dosificación; según el ensayo de unión dual de diana y efector).

Después de la administración de un único bolo IV a monos cynomolgus a niveles de dosis de 1, 10 y 30 mg/kg, el $T_{m\acute{a}x}$ se observó entre 0,083 y 1 hora después de la dosis excepto para la hembra a 1 mg/kg donde se observó 8 horas después de la dosis. El $T_{1/2}$ varió de 177 a 225 horas. El CL y V_d variaron entre 0,15 y 0,436 mL/hr/kg y 51,4 y 117 mL/kg, respectivamente. La exposición sistémica a ATRC-101 aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento pareció ser aproximadamente proporcional a la dosis excepto para las hembras entre 1 y 10 mg/kg donde el aumento fue menor que proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el sexo en la exposición, excepto en el nivel de dosis de 1 mg/kg, en donde la exposición de las hembras pareció ser dos veces mayor en comparación con la de los machos.

En el estudio de toxicidad de dosis repetidas de 4 semanas y TK, el $T_{m\acute{a}x}$ se observó generalmente a las 0,75 horas después de la SOI después de la administración una vez por semana a través de una infusión IV de 30 minutos a 10, 30 y 100 mg/kg/semana. La fase de eliminación terminal no se caracterizó en ningún animal debido a las concentraciones relativamente sostenidas observadas después de $T_{m\acute{a}x}$. La exposición sistémica aumentó con la dosis dentro del rango ensayado y el aumento pareció ser aproximadamente proporcional a la dosis. No hubo una diferencia notable relacionada con el género en la exposición. Después de la administración repetida, la exposición sistémica en el Día 22 fue generalmente más alta en comparación con el Día 1, con índices de acumulación individuales que variaron de 1,64 a 2,17.

En conjunto, estos datos indican que el perfil de PK de ATRC-101 es típico para un anticuerpo monoclonal IgG1 humano. Los datos del estudio PK de dosis única en monos cynomolgus se usaron para predecir los parámetros de PK de ATRC-101 en seres humanos. A una dosis de 0,3 mg/kg de ATRC-101, la $C_{m\acute{a}x}$ en seres humanos se estima que alcanza 7.81 $\mu\text{g/mL}$ y la $AUC_{0-672\text{hr}}$ se estima que es 53,1 día· $\mu\text{g/mL}$.

Según las pautas regulatorias, no se han realizado estudios de metabolismo, distribución tisular o excreción con ATRC-101 en animales. Como un anticuerpo monoclonal típico, se espera que ATRC-101 se degrade en pequeños péptidos y aminoácidos a través de vías bioquímicas que son independientes de las enzimas metabolizadoras de fármacos, tales como las enzimas citocromos P450, por lo que no se anticipan interacciones fármaco-fármaco.

TABLA 1A

	Número AIP	Secuencia de V_H	Secuencia de V_L
1	AIP-101235	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISRDC DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTST SFCCRSRGSCPSSDTSYCNGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 77)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 123)
2	AIP-127782	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTEYAASVKGRFTISRDC DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTST SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 78)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG IPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 124)
3	AIP-189473	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISRDC DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT SFCCRGASCPSSDTSYCAGSYKSY FVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 79)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 125)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
4	AIP-192571	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS (GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR (IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS ' SFCCRGNQCPSSDTSYCGGQYPSYY YMDPWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:80)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:126)
5	AIP-125258	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGRKQCPSSDTSYCNQYADYY FMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:81)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:127)
6	AIP-150199	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGRKQCPSSDTSYCGGQFKSY FMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:82)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:128)
7	AIP-115388	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCHSNNCPSSDTSYCNQYKQYY FMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:83)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:129)
8	AIP-143369	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTYSAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKAVHDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:84)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSTNI GSSSVTWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPLG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:130)
9	AIP-157045	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSMAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSNTDAETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:85)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSKSN I GSSYVSWYQQLPGTAPKLLIYMNNQRPYG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDDQLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:131)
10	AIP-175775	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGNSCPSSDTSYCNQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:86)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSKSN I GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDNSLSIRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:132)
11	AIP-154181	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTYSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVDGETTDYAAPVKGRFTISR	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSASSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNTQRASG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
		DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSFY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:87)	YCSSWDDSNVRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:133)
12	AIP-125984	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFAKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGHTTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:88)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSTNI GSSTVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNARPYG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDDSLTVRIFGGGKLTVL (SEQ ID NO:134)
13	AIP-160829	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFVFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGGITDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGNSCPSSDTSYCNGQYKSY FMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:89)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGASSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNTQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDDQLSVRVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:135)
14	AIP-184744	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSTSDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGGSCPSRDTSYCGGQYKSY FMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:90)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSTNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSSWDDSNVRIFGGGKLTVL (SEQ ID NO:136)
15	AIP-128136	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVQDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSDTSYCGGYKSY FMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:91)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSKSNI GSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDALSVRVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:137)
16	AIP-181273	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSDTSYCGGQYKSY FMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:92)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDALSVRVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:138)
17	AIP-153125	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVQDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:93)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSKSNI GSSYVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:139)
18	AIP-160470	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRP VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:140)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
		IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNLSKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 94)	
19	AIP- 192482	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSVLYLQMSSLKTEDTAVYFCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGQDKRYY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 95)	QSVLTQAPSASETGPQQRVITISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 141)
20	AIP- 171142	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKNTLYLQMNLSKTEDTAVYYCTT SFCCRGGSCPSHDTSFCCGQDKRYY YMDVWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 96)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 142)
21	AIP- 157397	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSVLYLQMSSLKTEDTAVYFCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGQYNRYY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 97)	QSVLTQAPSASETGPQQRVITISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 143)
22	AIP- 165430	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSVLYLQMSSLKTEDTAVYFCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 98)	QSVLTQAPSASETGPQQRVITISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 144)
23	AIP- 189526	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSTSDGGITDYAAPVKGRFTISR DSKNTLYLQMNLSKTEDTAVYYCTT SFCCRGGRCPSRDTSFCCGQYNSYY YMDVWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 99)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 145)
24	AIP- 122563	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNLSKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGQDKRYY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 100)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 146)
25	2AIP- 158623	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 147)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
		GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:101)	
26	AIP- 155066	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:102)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:148)
27	AIP- 136538	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQDSRY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:103)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:149)
28	AIP- 166120	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:104)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:150)
29	AIP- 133645	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:105)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDESLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:151)
30	AIP- 187893	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:106)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:152)
31	AIP- 142079	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGSYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:107)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:153)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
32	AIP-104188	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQDSRY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:108)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDESLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:154)
33	AIP-106042	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTEGETTDYAAPVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:109)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDESLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:155)
34	AIP-100196	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTEGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:110)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDESLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:156)
35	AIP-180675	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY FMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:111)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:157)
36	AIP-170105	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:112)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:158)
37	AIP-126080	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQNKQYY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:113)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:159)
38	AIP-161571	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGNCPSHETSYCGNQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:114)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:160)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
39	AIP-181246	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YVNIWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:115)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:161)
40	AIP-192216	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT SFCCRGASCPSHDTSYCAGSYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:116)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:162)
41	AIP-168605	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:117)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSDI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWNDALSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:163)
42	AIP-172872	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGEQTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:118)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNTQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLNVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:164)
43	AIP-190051	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:119)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDALSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:165)
44	AIP-167533	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKAADDGKQTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:120)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:166)
45	AIP-112580	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCIS SFCCRGNSCPSSDTSYCNGQYKSY YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:121)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:167)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
46	AIP-136060	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAAS GFTFSKAWMSWVRQAPGKLEWVGR IKSVTDGETTDYAAPVKGRFTISR DSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS SFCCRGGSCPSHDTSYCGGQYKSY YMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:122)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNI GSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNSLRPQG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:168)

Tabla 1B

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
1	AIP-101235	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRSGS CPSSDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:20)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2	AIP-127782	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TEYAASVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3	AIP-189473	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGAS CPSSDTSYCA GSYKSYFYVN I (SEQ ID NO:22)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
4	AIP-192571	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGNQ CPSSDTSYCG GQYPSYYYMD P (SEQ ID NO:23)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
5	AIP-125258	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	ISSFCCRQKQ CPSSDTSYCN GYYADYYFMD V (SEQ ID NO:24)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
6	AIP-150199	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	ISSFCCRQKQ CPSSDTSYCG GQFKSYFYMD V (SEQ ID NO:25)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
7	AIP-115388	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	ISSFCCHSNN CPSSDTSYCN GYYKQYYFMD V (SEQ ID NO:26)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
8	AIP-143369	GFTYSAAW MS (SEQ ID NO:2)	RIKAVHDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:10)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSTNIG SSSVT (SEQ ID NO:49)	KDNQRPL (SEQ ID NO:60)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
9	AIP-157045	GFTFSMAW MS (SEQ ID NO:3)	RIKSNTDAET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:11)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSKSNIG SSYVS (SEQ ID NO:50)	MNNQRPY (SEQ ID NO:61)	ATWDDQL VRV (SEQ ID NO:69)
1	AIP-	GFTFSAAW	RIKSVTDGET	ISSFCCRGN	SGSKSNIG	KDNQRPS	ATWDNSLS

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
0	175775	MS (SEQ ID NO:4)	TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	CPSSDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:27)	SSSVS (SEQ ID NO:51)	(SEQ ID NO:62)	IRV (SEQ ID NO:70)
1	AIP- 154181	GFTYKAW MS (SEQ ID NO:5)	RIKSVQDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:12)	TSSFCCRGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:28)	SGASSNIG SSSVS (SEQ ID NO:52)	KNTQORAS (SEQ ID NO:63)	SSWDDSNS VRI (SEQ ID NO:71)
1	AIP- 125984	GFTFAKAW MS (SEQ ID NO:6)	RIKSVTDGHT TDYAAPVKG (SEQ ID NO:13)	TSSFCCRGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSTNIG SSTVS (SEQ ID NO:53)	KNNARPY (SEQ ID NO:64)	ATWDDSLT VRI (SEQ ID NO:76)
1	AIP- 160829	GFVFSKAW MS (SEQ ID NO:7)	RIKSVTDGGI TDYAAPVKG (SEQ ID NO:14)	ISSFCCRGN CPSSDTSYCN GQYKSYFYMD V (SEQ ID NO:29)	SGASSNIG SSSVS (SEQ ID NO:52)	KNTQORPS (SEQ ID NO:65)	ATWDDQLS VRV (SEQ ID NO:69)
1	AIP- 184744	GFTFSAAW MS (SEQ ID NO:4)	RIKSTSDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:15)	ISSFCCRGG CPSRDTSYCG GQYKSYFYMD V (SEQ ID NO:30)	SGSSTNIG SSSVS (SEQ ID NO:54)	KDNQORPS (SEQ ID NO:62)	SSWDDSNS VRI (SEQ ID NO:71)
1	AIP- 128136	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVQDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:12)	TSSFCCRGG CPSSDTSYCG GYYKSYFYMD V (SEQ ID NO:31)	SGSKSNIG SSSVY (SEQ ID NO:55)	KNNQRPY (SEQ ID NO:66)	STWDDALS VRV (SEQ ID NO:72)
1	AIP- 181273	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGG CPSSDTSYCG GQYKSYFYMD V (SEQ ID NO:32)	SGSSSNIG SSSVY (SEQ ID NO:56)	KNNQORPS (SEQ ID NO:59)	STWDDALS VRV (SEQ ID NO:72)
1	AIP- 153125	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVQDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:12)	TSSFCCRGG CPSHDTSYCG GYYKSYYYMD V (SEQ ID NO:33)	SGSKSNIG SSYVS (SEQ ID NO:50)	KNNQRPY (SEQ ID NO:66)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
1	AIP- 160470	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQORPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
1	AIP- 192482	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGG CPSHDTSFCG GQDKRYYYMD V (SEQ ID NO:48)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:59)	KNNQORPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
				NO:34)			
2 0	AIP- 171142	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQDKRYYYMD V (SEQ ID NO:35)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 1	AIP- 157397	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQYNRYYYMD V (SEQ ID NO:36)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 2	AIP- 165430	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:37)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 3	AIP- 189526	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSTSDGGI TDYAAPVKG (SEQ ID NO:16)	TTSFCCRGGG CPSRDTSF GQYNSYYMD V (SEQ ID NO:38)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 4	AIP- 122563	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQDKRYYYMD V (SEQ ID NO:34)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 5	AIP- 158623	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:37)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 6	AIP- 155066	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:39)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 7	AIP- 136538	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQDSRYYYMD V (SEQ ID NO:40)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 8	AIP- 166120	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSY GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
2 9	AIP- 133645	GFTFSKAW MT (SEQ	RIKSVTDGET TDYAAPVKG	TTSFCCRGGG CPSHDTSF	SGSSSNIG SSSVS	KNNQRPS (SEQ ID	STWDESL VRV (SEQ

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
		ID NO:8)	(SEQ ID NO:9)	GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:37)	(SEQ ID NO:48)	NO:59)	ID NO:73)
3 0	AIP- 187893	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:37)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3 1	AIP- 142079	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:41)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3 2	AIP- 104188	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY GQDSRYYYMD V (SEQ ID NO:42)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDESL VRV (SEQ ID NO:73)
3 3	AIP- 106042	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTEGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:17)	TTSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:39)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDESL VRV (SEQ ID NO:73)
3 4	AIP- 100196	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTEGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:17)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:37)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDESL VRV (SEQ ID NO:73)
3 5	AIP- 180675	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY GQYKSYYFMD V (SEQ ID NO:43)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3 6	AIP- 170105	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVY (SEQ ID NO:56)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3 7	AIP- 126080	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY GQNKQYYYMD V (SEQ ID NO:44)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
3 8	AIP- 161571	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHETSY NQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:45)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
39	AIP-181246	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYVN I (SEQ ID NO:46)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
40	AIP-192216	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TTSFCCRGGG CPSHDTSYCA GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:47)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
41	AIP-168605	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSDIG SSSVS (SEQ ID NO:57)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWNDALS VRV (SEQ ID NO:74)
42	AIP-172872	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGEQ TDYAAPVKG (SEQ ID NO:18)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNTQRPS (SEQ ID NO:65)	STWDDSLN VRV (SEQ ID NO:75)
43	AIP-190051	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:8)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSPSNIG SSSVS (SEQ ID NO:58)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDALS VRV (SEQ ID NO:72)
44	AIP-167533	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKAADDGKQ TDYAAPVKG (SEQ ID NO:19)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
45	AIP-112580	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	ISSFCCRGN CPSSDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:27)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNNQRPS (SEQ ID NO:59)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)
46	AIP-136060	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:1)	RIKSVTDGET TDYAAPVKG (SEQ ID NO:9)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:21)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:48)	KNSLRPQ (SEQ ID NO:67)	STWDDSL VRV (SEQ ID NO:68)

TABLA 2A

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
1	AIP-148327	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTEGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSVLYLQMSSLKTEDTAVY FCTSSFCCRGGSCPSHDTSF CGGQ DKRYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1333)	QSVLTQAPSASETPGQRVIISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDESLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1527)
2	AIP-198092	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTEGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSF CGGQ DKRYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1334)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDESLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1528)
3	AIP-184490	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSF CGGS YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1335)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDESLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1529)
4	AIP-102396	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSY CGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1336)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDESLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1530)
5	AIP-150055	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGYTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSY CGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1337)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1531)
6	AIP-167084	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSY CGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1338)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1532)
7	AIP-185304	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFVFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSY CGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1339)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1533)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
8	AIP-134770	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTYSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1340)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1534)
9	AIP-141887	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFAKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1341)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1535)
10	AIP-196203	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1342)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1536)
11	AIP-184151	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSRAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1343)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1537)
12	AIP-128195	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSMAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1344)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1538)
13	AIP-116579	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1345)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1539)
14	AIP-192329	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSHAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1346)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1540)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
15	AIP-192329	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSHAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1347)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1541)
16	AIP-197809	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAYMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1348)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1542)
17	AIP-142489	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWFSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1349)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1543)
18	AIP-148102	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIQSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1350)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1544)
19	AIP-167726	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1351)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1545)
20	AIP-199834	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSATDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1352)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1546)
21	AIP-143179	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSNTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1353)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1547)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
22	AIP-195587	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVHDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1354)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1548)
23	AIP-153462	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVDDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1355)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1549)
24	AIP-115363	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVQDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1356)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1550)
25	AIP-151090	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTNGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1357)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1551)
26	AIP-168083	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDAETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1358)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1552)
27	AIP-161082	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGQTDDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1359)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1553)
28	AIP-114196	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGHTTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1360)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1554)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
29	AIP-189338	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGEQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1361)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1555)
30	AIP-183190	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGEATDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1362)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1556)
31	AIP-110143	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYASPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1363)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1557)
32	AIP-147176	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVQGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1364)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1558)
33	AIP-134312	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1365)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1559)
34	AIP-128243	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1366)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1560)
35	AIP-156172	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSPFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1367)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1561)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
36	AIP-147389	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSAFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1368)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1562)
37	AIP-124314	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1369)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1563)
38	AIP-185291	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCLGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1370)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1564)
39	AIP-135247	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCHGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1371)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1565)
40	AIP-113513	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCQGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1372)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1566)
41	AIP-102299	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRSGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1373)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1567)
42	AIP-179097	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGASCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1374)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1568)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
43	AIP-109343	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRKGKSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1375)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1569)
44	AIP-119622	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGNSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1376)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1570)
45	AIP-191735	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGNCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1377)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1571)
46	AIP-157078	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGQCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1378)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1572)
47	AIP-153475	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGACPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1379)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1573)
48	AIP-133650	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCASHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1380)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1574)
49	AIP-190915	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCLSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1381)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1575)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
50	AIP-105241	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPAHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1382)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1576)
51	AIP-167400	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPNHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1383)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1577)
52	AIP-109729	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPSDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1384)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1578)
53	AIP-151709	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPSQDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1385)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1579)
54	AIP-137169	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPSHETSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1386)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1580)
55	AIP-199616	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPSHDQSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1387)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1581)
56	AIP-189296	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGGSCPSHDTSMCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1388)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1582)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
57	AIP-152283	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCAGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1389)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1583)
58	AIP-136628	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCNGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1390)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1584)
59	AIP-100340	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGNQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1391)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1585)
60	AIP-166959	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGAQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1392)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1586)
61	AIP-190362	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGS YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1393)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1587)
62	AIP-101601	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGY YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1394)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1588)
63	AIP-159023	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ FKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1395)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1589)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
64	AIP-146871	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YPSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1396)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1590)
65	AIP-170053	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YASYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1397)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1591)
66	AIP-199483	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YQSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1398)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1592)
67	AIP-161048	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKDYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1399)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1593)
68	AIP-162041	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSFYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1400)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1594)
69	AIP-197886	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYFYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1401)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1595)
70	AIP-183133	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYWMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1402)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1596)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
71	AIP-191470	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYLLMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1403)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1597)
72	AIP-151167	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYVDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1404)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1598)
73	AIP-106633	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYFDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1405)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1599)
74	AIP-102624	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMNVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1406)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1600)
75	AIP-109484	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1407)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1601)
76	AIP-164754	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDPWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1408)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1602)
77	AIP-169676	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ FKDYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1409)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1603)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
78	AIP-177584	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ SKQYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1410)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1604)
79	AIP-174676	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ SKKYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1411)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1605)
80	AIP-120546	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFSCRGGSCPSHDTSYSGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1412)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1606)
81	AIP-186435	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFACRGGSCPSHDTSYVGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1413)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1607)
82	AIP-171074	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGNSCPAHDTSYCGGQ YPSYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1414)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1608)
83	AIP-163039	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCLGGSCPSHDTSYCGGS YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1415)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1609)
84	AIP-147652	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRKGKSCPSHDNSYCGGQ YASYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1416)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1610)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
85	AIP-182061	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCRGGSCPSHDTSYCGGQ FKSYYYMDPVGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1417)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1611)
86	AIP-172643	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSTFCCRGGSCLSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1418)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1612)
87	AIP-171912	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFD FSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGQTTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1419)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCTGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1613)
88	AIP-167833	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFAKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1420)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSST NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNY RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1614)
89	AIP-145518	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDASKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1421)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1615)
90	AIP-143155	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1422)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCTGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1616)
91	AIP-119664	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:1423)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGASS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1617)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
92	AIP-190526	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1424)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSPS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1618)
93	AIP-114403	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1425)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSKS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1619)
94	AIP-156760	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1426)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSST NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1620)
95	AIP-103803	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1427)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS DIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1621)
96	AIP-182722	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1428)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIQSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1622)
97	AIP-195588	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1429)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGHSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1623)
98	AIP-145722	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1430)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSTSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1624)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
99	AIP-178251	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1431)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSNSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1625)
100	AIP-116142	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1432)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSASVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1626)
101	AIP-183350	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1433)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSTVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1627)
102	AIP-127108	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1434)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSAVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1628)
103	AIP-128147	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1435)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSYVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1629)
104	AIP-109510	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1436)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1630)
105	AIP-104086	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:1437)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVAWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1631)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
106	AIP-143132	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1438)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVTWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1632)
107	AIP-169636	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1439)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1633)
108	AIP-152243	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1440)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYNNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1634)
109	AIP-138776	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1441)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYMNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1635)
110	AIP-103817	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1442)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYANNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1636)
111	AIP-130491	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1443)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYHNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1637)
112	AIP-188155	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1444)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1638)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
113	AIP-167246	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1445)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNTQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1639)
114	AIP-106139	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1446)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNY RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1640)
115	AIP-198351	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1447)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNN RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1641)
116	AIP-159326	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1448)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNL RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1642)
117	AIP-192275	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1449)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ QPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1643)
118	AIP-190761	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1450)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RASGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1644)
119	AIP-166832	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1451)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPYGVDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1645)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
120	AIP-148062	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1452)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPLGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1646)
121	AIP-129145	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1453)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCATWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1647)
122	AIP-111240	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1454)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSSLWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1648)
123	AIP-190749	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1455)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTFDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1649)
124	AIP-153888	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1456)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDNSLSRVFVGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1650)
125	AIP-130915	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1457)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDQLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1651)
126	AIP-109048	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1458)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDALSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1652)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
127	AIP-170569	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1459)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDDLNVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1653)
128	AIP-154873	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1460)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDNSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1654)
129	AIP-159037	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1461)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1655)
13	AIP-186826	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1462)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLNVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1656)
131	AIP-156514	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1463)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLNVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1657)
132	AIP-157122	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1464)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLTVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1658)
133	AIP-173276	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1465)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLNVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1659)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
134	AIP-150485	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1466)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVKVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1660)
135	AIP-135679	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1467)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVWVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1661)
136	AIP-166847	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1468)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVHVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1662)
137	AIP-124013	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1469)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVQVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1663)
138	AIP-126285	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1470)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRIFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1664)
139	AIP-190274	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1471)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS DIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWNDQLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1665)
140	AIP-150277	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1472)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCHGSES DIGSHDVLWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1666)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
141	AIP-104364	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWYSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1473)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1667)
142	AIP-180422	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTEYAASVKGRFTI SRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1474)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1668)
143	AIP-166722	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTEYAASVKGRFTI SRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1475)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQA EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1669)
144	AIP-193490	EVQLVESGGGLVQPGPSLRLSCTA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GFIKSVTDGETTEYAASVKGRFTI SRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1476)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQA EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1670)
145	AIP-129967	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCRSRGSCPSSDTSYCNGQ FKSYYYMDPWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1477)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1671)
146	AIP-126175	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRSGSCPSSDTSYCNGQ YKSYYYVNIWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1478)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1672)
147	AIP-180905	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCRGASCPSHDTSYCAGS YKSYYYVNIWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1479)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1673)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
148	AIP-141706	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSAFCCRKGKSCPSSDTSYCGGQ YPSYYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1480)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1674)
149	AIP-105092	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSAFCCRKGKCPSHDTSFCGGQ DKRYYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1481)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1675)
150	AIP-152031	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSAFCCRGNCPSHETSYCNGQ NKQYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1482)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1676)
151	AIP-163319	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGNCQPSDTSFCGGQ DKRYYMDVPWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1483)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1677)
152	AIP-160621	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCRGNCQPSHETSYCGGY YKSYFYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1484)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1678)
153	AIP-145212	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCRGKQCPSHDTSYCAGQ YADYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1485)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1679)
154	AIP-112328	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCRGKQCPSSDTSYCNGQ YADYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1486)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1680)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
155	AIP-193106	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRKGKQCPSSDTSYCNGQ YADYYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1487)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1681)
156	AIP-125062	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCRKGKQCPSSDTSFCGGQ DKRYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1488)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1682)
157	AIP-124301	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSAFCCRKGKQCPSSDTSYCGGQ YASFYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1489)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1683)
158	AIP-124068	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCQGNPCPSDTSYCGGY YKDYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1490)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1684)
159	AIP-144568	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCQGNPCPSHDSYCGGQ YKSYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1491)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1685)
160	AIP-139782	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCQGNPCPSHETS YCGGQ YADYYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1492)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1686)
161	AIP-171543	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCHGNSCPSSDTSYCGGQ NKQYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1493)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1687)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
162	AIP-140148	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCHGNSCPSHDTSYCNGQ NKQYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1494)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1688)
163	AIP-177193	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCHSNNCPSSDTSYCNGQ YKQYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1495)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1689)
164	AIP-171348	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCHSNNCPSHDTSYCGGQ YKSYYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1496)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1690)
165	AIP-193088	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFACHSNNCPSSDTSYVNGY YKQYYFMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1497)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1691)
166	AIP-182087	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCHSNNCPSSDTSYCNGQ YKQYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1498)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1692)
167	AIP-151388	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCLGKACLSDTSYCGGQ YASYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1499)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1693)
168	AIP-149787	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCLGKACLSSDTSYCGGY YASYYFVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1500)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1694)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
169	AIP-126097	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFACLGKACLSSDTSYVGGY YASYFVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1501)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1695)
170	AIP-107759	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCLGNPCSSDTSYCGGQ FKSYYMDPWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1502)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1696)
171	AIP-148484	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCLGNPCSSDTSFCGGQ DKRYYMDPWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1503)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1697)
172	AIP-186403	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCCLGGNCPSETSICGNQ YPSYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1504)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1698)
173	AIP-166629	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCCLGGNCPSETSICGNY YPSYFYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1505)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1699)
174	AIP-165276	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCCLGGNCPSETSICGNQ YPSYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1506)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1700)
175	AIP-188293	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFACRGNQCPSHETSYVGGY YKSYFYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1507)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1701)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
176	AIP-109364	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFACRGNQCPSETSYVGGY YKSYFFMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1508)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1702)
177	AIP-191805	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFACRGKQCPSSDTSYVGGQ FKSYFFMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1509)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1703)
178	AIP-181592	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFAKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCLSHDTSYCGGQ YKSYWMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1510)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSST NIGSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNY RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1704)
179	AIP-155587	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTYAKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVQDGEQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCLGGSCPSHDTSYCGGS YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1511)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSST NIGSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNY RASGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1705)
180	AIP-147945	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDASKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ NKQYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1512)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNSL RPQGVDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1706)
181	AIP-199264	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDASKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFACRGGSCPSHDTSYVGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1513)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNSL RPQGVDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1707)
182	AIP-123438	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDASKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSYCCLGGSCPSHDTSYCGGS YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1514)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNSL RPQGVDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1708)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
183	AIP-151315	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFDASKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRKGKSCPSHDTSYCGGQ YASYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1515)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSS NIGSSYVSWYQQLPGTAPKLLIYKNSL RPQGVPRDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1709)
184	AIP-197785	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGNCPSHETSYCGNQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1516)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPS NIGSASTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1710)
185	AIP-115782	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRSRGSCPSDTSYCNGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1517)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPS NIGSASTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1711)
186	AIP-138130	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGSGCPSHDTSYCGGQ YKSYYYVNIWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1518)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPS NIGSASTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1712)
187	AIP-170221	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCRGASCPSHDTSYCAGS YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1519)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPS NIGSASTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1713)
188	AIP-167482	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAADDGKQTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCISSFCCRGNSCPSDTSYCNGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1520)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSPS NIGSASTSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1714)
189	AIP-189475	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKAVTDGHTTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGSGCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:1521)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGASS NIGHSSVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQ QPLGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDALSIRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1715)

	Número AIP	Secuencia de V _H	Secuencia de V _L
190	AIP-102833	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFVYSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGQATDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1522)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNTQ RASGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDALNVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1716)
191	AIP-173396	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFVFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRKGKSCPSHDTSYCGGQ YASYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1523)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNQ QPLGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSSLVSRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1717)
192	AIP-132355	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFAKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVTDAETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRSGSCPSDTSYCNGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1524)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVTWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCATWDNSLSIRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1718)
193	AIP-118505	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTYAKAWFTWVRQAPGKGLEWV GRIKSTSDGGITDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSHDTSFCCGGQ YKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1525)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSKS NIGSSYVSWYQQLPGTAPKLLIYKDNQ RASGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDALSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1719)
194	AIP-131972	EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWV GRIKSVSDGETTDYAAPVKGRFTI SRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSSFCCRGGSCPSRDTSYCGGQ YKSYFFMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:1526)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1720)
195	AIP-189526	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAA SGFTFSKAWMTWVRQAPGKGLEWV GRIKSTSDGGITDYAAPVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTSFCCRGGRCPSRDTSFCCGGQ YNSYYMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:1725)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSS NIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:1726)

TABLA 2B

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
196	AIP-148327	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:169)	RIKSVTEGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:363)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF CG GQDKRYYYMD V (SEQ ID NO:557)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:751)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 945)	STWDESL SVRV (SEQ ID NO:1139)
197	AIP-198092	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:170)	RIKSVTEGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:364)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF CG GQDKRYYYMD V (SEQ ID NO:558)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:752)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 946)	STWDESL SVRV (SEQ ID NO:1140)
198	AIP-184490	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:171)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:365)	TSSFCCRGGG CPSHDTSF CG GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:559)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:753)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 947)	STWDESL SVRV (SEQ ID NO:1141)
199	AIP-102396	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:172)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:366)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:560)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:754)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 948)	STWDESL SVRV (SEQ ID NO:1142)
200	AIP-150055	GYTFSKAW MS (SEQ ID NO:173)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:367)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:561)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:755)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 949)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1143)
201	AIP-167084	GFDFSKAW MS (SEQ ID NO:174)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:368)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:562)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:756)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 950)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1144)
202	AIP-185304	GFVFSKAW MS (SEQ ID NO:175)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:369)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:563)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:757)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 951)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1145)
203	AIP-134770	GFTYSKAW MS (SEQ ID NO:176)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:370)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:564)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:758)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 952)	
204	AIP-141887	GFTFAKAW MS (SEQ ID NO:177)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:371)	TSSFCCRGGG CPSHDTSY CG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:565)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:759)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 953)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1147)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
205	AIP-196203	GFTFSNAW MS (SEQ ID NO:178)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:372)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:566)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:760)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 954)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1148)
206	AIP-184151	GFTFSRAW MS (SEQ ID NO:179)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:373)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:567)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:761)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 955)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1149)
207	AIP-128195	GFTFSMAW MS (SEQ ID NO:180)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:374)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:568)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:762)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 956)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1150)
208	AIP-116579	GFTFSAAW MS (SEQ ID NO:181)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:375)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:569)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:763)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 957)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1151)
209	AIP-192329	GFTFSHAW MS (SEQ ID NO:182)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:376)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:570)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:764)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 958)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1152)
210	AIP-192329	GFTFSHAW MS (SEQ ID NO:183)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:377)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:571)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:765)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 959)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1153)
211	AIP-197809	GFTFSKAY MS (SEQ ID NO:184)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:378)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:572)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:766)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 960)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1154)
212	AIP-142489	GFTFSKAW FS (SEQ ID NO:185)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:379)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:573)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:767)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 961)	
213	AIP-148102	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:186)	RIQSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:380)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:574)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:768)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 962)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1156)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
214	AIP-167726	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:187)	RIKAVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:381)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:575)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:769)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 963)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1157)
215	AIP-199834	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:188)	RIKSATDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:382)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:576)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:770)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 964)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1158)
216	AIP-143179	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:189)	RIKSNTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:383)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:577)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:771)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 965)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1159)
217	AIP-195587	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:190)	RIKSVHDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:384)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:578)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:772)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 966)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1160)
218	AIP-153462	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:191)	RIKSVDDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:385)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:579)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:773)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 967)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1161)
219	AIP-115363	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:192)	RIKSVQDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:386)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:580)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:774)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 968)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1162)
220	AIP-151090	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:193)	RIKSVTNGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:387)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:581)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:775)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 969)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1163)
221	AIP-168083	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:194)	RIKSVTDAE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:388)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:582)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:776)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 970)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1164)
222	AIP-161082	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:195)	RIKSVTDGQ TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:389)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:583)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:777)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 971)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1165)
223	AIP-114196	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:196)	RIKSVTDGH TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:390)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:584)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:778)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 972)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1166)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
224	AIP-189338	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:197)	RIKSVTDGE QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:391)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:585)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:779)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 973)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1167)
225	AIP-183190	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:198)	RIKSVTDGE ATDYAAPVK G (SEQ ID NO:392)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:586)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:780)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 974)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1168)
226	AIP-110143	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:199)	RIKSVTDGE TTDYASPVK G (SEQ ID NO:393)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:587)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:781)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 975)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1169)
227	AIP-147176	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:200)	RIKSVTDGE TTDYAAPVQ G (SEQ ID NO:394)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:588)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:782)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 976)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1170)
228	AIP-134312	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:201)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:395)	ISSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:589)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:783)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 977)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1171)
229	AIP-128243	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:202)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:396)	TTSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:590)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:784)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 978)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1172)
230	AIP-156172	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:203)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:397)	TSPFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:591)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:785)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 979)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1173)
231	AIP-147389	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:204)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:398)	TSAFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:592)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:786)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 980)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1174)
232	AIP-124314	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:205)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:399)	TSSYCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:593)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:787)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 981)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1175)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
233	AIP-185291	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:206)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:400)	TSSFCCLGGS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:594)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:788)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 982)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1176)
234	AIP-135247	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:207)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:401)	TSSFCCGGGS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:595)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:789)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 983)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1177)
235	AIP-113513	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:208)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:402)	TSSFCCQGGGS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:596)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:790)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 984)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1178)
236	AIP-102299	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:209)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:403)	TSSFCCRSGS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:597)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:791)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 985)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1179)
237	AIP-179097	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:210)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:404)	TSSFCCRGAS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:598)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:792)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 986)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1180)
238	AIP-109343	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:211)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:405)	TSSFCCRGRKS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:599)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:793)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 987)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1181)
239	AIP-119622	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:212)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:406)	TSSFCCRGNNS CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:600)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:794)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 988)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1182)
240	AIP-191735	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:213)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:407)	TSSFCCRGGN CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:601)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:795)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 989)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1183)
241	AIP-157078	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:214)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:408)	TSSFCCRGGQ CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:602)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:796)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 990)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1184)
242	AIP-153475	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:215)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:409)	TSSFCCRGA CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:603)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:797)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 991)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1185)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
243	AIP-133650	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:216)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:410)	TSSFCCRGGG CASHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:604)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:798)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 992)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1186)
244	AIP-190915	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:217)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:411)	TSSFCCRGGG CLSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:605)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:799)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 993)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1187)
245	AIP-105241	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:218)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:412)	TSSFCCRGGG CPAHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:606)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:800)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 994)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1188)
246	AIP-167400	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:219)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:413)	TSSFCCRGGG CPNHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:607)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:801)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 995)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1189)
247	AIP-109729	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:220)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:414)	TSSFCCRGGG CPSSDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:608)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:802)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 996)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1190)
248	AIP-151709	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:221)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:415)	TSSFCCRGGG CPSQDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:609)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:803)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 997)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1191)
249	AIP-137169	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:222)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:416)	TSSFCCRGGG CPSHETSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:610)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:804)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 998)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1192)
250	AIP-199616	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:223)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:417)	TSSFCCRGGG CPSHDQSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:611)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:805)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 999)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1193)
251	AIP-189296	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:224)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:418)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:612)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:806)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1000)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1194)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
252	AIP-152283	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:225)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:419)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCA GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:613)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:807)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1001)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1195)
253	AIP-136628	GFTFSKAW	RIKSVTDGE	TSSFCCRGGG	SGSSSNIG	KNNQRPS	STWDDSL
		MS (SEQ ID NO:226)	TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:420)	CPSHDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:614)	SSSVS (SEQ ID NO:808)	(SEQ ID NO: 1002)	SVRV (SEQ ID NO:1196)
254	AIP-100340	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:227)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:421)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG NQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:615)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:809)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1003)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1197)
255	AIP-166959	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:228)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:422)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG AQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:616)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:810)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1004)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1198)
256	AIP-190362	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:229)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:423)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:617)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:811)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1005)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1199)
257	AIP-101601	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:230)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:424)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GYYKSYYYMD V (SEQ ID NO:618)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:812)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1006)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1200)
258	AIP-159023	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:231)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:425)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQFKSYYYMD V (SEQ ID NO:619)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:813)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1007)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1201)
259	AIP-146871	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:232)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:426)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYPSYYMD V (SEQ ID NO:620)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:814)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1008)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1202)
260	AIP-170053	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:233)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:427)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYASYYMD V (SEQ ID NO:621)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:815)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1009)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1203)
261	AIP-199483	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:234)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:428)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYQSYYYMD V (SEQ ID NO:622)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:816)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1010)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1204)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
262	AIP-161048	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:235)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:429)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKDYYYMD V (SEQ ID NO:623)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:817)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1011)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1205)
263	AIP-162041	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:236)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:430)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSFYYMD V (SEQ ID NO:624)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:818)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1012)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1206)
264	AIP-197886	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:237)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:431)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYFYMD V (SEQ ID NO:625)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:819)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1013)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1207)
265	AIP-183133	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:238)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:432)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYWMD V (SEQ ID NO:626)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:820)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1014)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1208)
266	AIP-191470	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:239)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:433)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYLMD V (SEQ ID NO:627)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:821)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1015)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1209)
267	AIP-151167	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:240)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:434)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYVD V (SEQ ID NO:628)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:822)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1016)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1210)
268	AIP-106633	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:241)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:435)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYFD V (SEQ ID NO:629)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:823)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1017)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1211)
269	AIP-102624	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:242)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:436)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMN V (SEQ ID NO:630)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:824)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1018)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1212)
270	AIP-109484	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:243)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:437)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD I (SEQ ID NO:631)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:825)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1019)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1213)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
271	AIP-164754	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:244)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:438)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD P (SEQ ID NO:632)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:826)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1020)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1214)
272	AIP-169676	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:245)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:439)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQFKDYYYMD V (SEQ ID NO:633)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:827)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1021)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1215)
273	AIP-177584	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:246)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:440)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQSKQYYMD V (SEQ ID NO:634)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:828)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1022)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1216)
274	AIP-174676	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:247)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:441)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQSKKYYMD V (SEQ ID NO:635)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:829)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1023)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1217)
275	AIP-120546	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:248)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:442)	TSSFSCRGGG CPSHDTSYSG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:636)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:830)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1024)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1218)
276	AIP-186435	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:249)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:443)	TSSFACRGGG CPSHDTSYVG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:637)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:831)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1025)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1219)
277	AIP-171074	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:250)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:444)	TSSFCCRGN CPAHDTSYCG GQYPSYYMD V (SEQ ID NO:638)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:832)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1026)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1220)
278	AIP-163039	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:251)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:445)	TSSYCCLGGG CPSHDTSYCG GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:639)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:833)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1027)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1221)
279	AIP-147652	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:252)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:446)	TSSFCCRGGK CPSHDNSYCG GQYASYYMD V (SEQ ID NO:640)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:834)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1028)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1222)
280	AIP-182061	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:253)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:447)	TSSYCRRGGG CPSHDTSYCG GQFKSYYYMD P (SEQ ID NO:641)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:835)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1029)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1223)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
281	AIP-172643	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:254)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:448)	TSTFCCRGGG CLSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:642)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:836)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1030)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1224)
282	AIP-171912	GFDASKAW MS (SEQ ID NO:255)	RIKSVTDGQ TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:449)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:643)	TGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:837)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1031)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1225)
283	AIP-167833	GFTFAKAW MS (SEQ ID NO:256)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:450)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:644)	SGSSTNIG SSSVS (SEQ ID NO:838)	KNNYRPS (SEQ ID NO: 1032)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1226)
284	AIP-145518	GFDASKAW FT (SEQ ID NO:257)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:451)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:645)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:839)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1033)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1227)
285	AIP-143155	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:258)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:452)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:646)	TGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:840)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1034)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1228)
286	AIP-119664	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:259)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:453)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:647)	SGASSNIG SSSVS (SEQ ID NO:841)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1035)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1229)
287	AIP-190526	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:260)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:454)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:648)	SGSPSNIG SSSVS (SEQ ID NO:842)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1036)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1230)
288	AIP-114403	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:261)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:455)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:649)	SGSKSNIG SSSVS (SEQ ID NO:843)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1037)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1231)
289	AIP-156760	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:262)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:456)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:650)	SGSSTNIG SSSVS (SEQ ID NO:844)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1038)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1232)
290	AIP-103803	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:263)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:457)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:651)	SGSSSDIG SSSVS (SEQ ID NO:845)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1039)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1233)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
291	AIP-182722	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:264)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:458)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:652)	SGSSSNIQ SSSVS (SEQ ID NO:846)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1040)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1234)
292	AIP-195588	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:265)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:459)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:653)	SGSSSNIG HSSVS (SEQ ID NO:847)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1041)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1235)
293	AIP-145722	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:266)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:460)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:654)	SGSSSNIG STSVS (SEQ ID NO:848)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1042)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1236)
294	AIP-178251	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:267)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:461)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:655)	SGSSSNIG SNSVS (SEQ ID NO:849)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1043)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1237)
295	AIP-116142	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:268)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:462)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:656)	SGSSSNIG SASVS (SEQ ID NO:850)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1044)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1238)
296	AIP-183350	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:269)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:463)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:657)	SGSSSNIG SSTVS (SEQ ID NO:851)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1045)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1239)
297	AIP-127108	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:270)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:464)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:658)	SGSSSNIG SSAVS (SEQ ID NO:852)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1046)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1240)
298	AIP-128147	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:271)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:465)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:659)	SGSSSNIG SSYVS (SEQ ID NO:853)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1047)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1241)
299	AIP-109510	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:272)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:466)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:660)	SGSSSNIG SSSTS (SEQ ID NO:854)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1048)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1242)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
300	AIP-104086	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:273)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:467)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:661)	SGSSSNIG SSSVA (SEQ ID NO:855)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1049)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1243)
301	AIP-143132	GFTFSKAW	RIKSVTDGE	TSSFCCRGGG	SGSSSNIG	KNNQRPS	STWDDSL
		MS (SEQ ID NO:274)	TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:468)	CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:662)	SSSVT (SEQ ID NO:856)	(SEQ ID NO:1050)	SVRV (SEQ ID NO:1244)
302	AIP-169636	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:275)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:469)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:663)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:857)	RNNQRPS (SEQ ID NO:1051)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1245)
303	AIP-152243	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:276)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:470)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:664)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:858)	NNNQRPS (SEQ ID NO:1052)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1246)
304	AIP-138776	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:277)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:471)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:665)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:859)	MNNQRPS (SEQ ID NO:1053)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1247)
305	AIP-103817	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:278)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:472)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:666)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:860)	ANNQRPS (SEQ ID NO:1054)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1248)
306	AIP-130491	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:279)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:473)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:667)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:861)	HNNQRPS (SEQ ID NO:1055)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1249)
307	AIP-188155	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:280)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:474)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:668)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:862)	KDNQRPS (SEQ ID NO:1056)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1250)
308	AIP-167246	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:281)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:475)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:669)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:863)	KNTQRPS (SEQ ID NO:1057)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1251)
309	AIP-106139	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:282)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:476)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:670)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:864)	KNNYRPS (SEQ ID NO:1058)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1252)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
310	AIP-198351	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:283)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:477)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:671)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:865)	KNNARPS (SEQ ID NO:1059)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1253)
311	AIP-159326	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:284)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:478)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:672)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:866)	KNNLRPS (SEQ ID NO:1060)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1254)
312	AIP-192275	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:285)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:479)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:673)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:867)	KNNQQPS (SEQ ID NO:1061)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1255)
313	AIP-190761	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:286)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:480)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:674)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:868)	KNNQRAS (SEQ ID NO:1062)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1256)
314	AIP-148062	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:287)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:481)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:675)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:869)	KNNQRPY (SEQ ID NO:1063)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1257)
315	AIP-148062	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:288)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:482)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:676)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:870)	KNNQRPL (SEQ ID NO:1064)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1258)
316	AIP-129145	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:289)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:483)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:677)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:871)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1065)	ATWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1259)
317	AIP-111240	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:290)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:484)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:678)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:872)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1066)	SSWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1260)
318	AIP-190749	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:291)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:485)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:679)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:873)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1067)	STFDDSL SVRV (SEQ ID NO:1261)
319	AIP-153888	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:292)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:486)	TSSFCCRGGSCPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:680)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:874)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1068)	STWDNSL SVRV (SEQ ID NO:1262)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
320	AIP-130915	GFTFSKAW MS (SEQ NO:293)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:487)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:681)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:875)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1069)	STWDDQL SVRV (SEQ ID NO:1263)
321	AIP-109048	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:294)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:488)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:682)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:876)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1070)	STWDDAL SVRV (SEQ ID NO:1264)
322	AIP-170569	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:295)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:489)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:683)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:877)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1071)	STWDDDL SVRV (SEQ ID NO:1265)
323	AIP-154873	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:296)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:490)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:684)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:878)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1072)	STWDDSN SVRV (SEQ ID NO:1266)
324	AIP-159037	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:297)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:491)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:685)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:879)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1073)	STWDDSS SVRV (SEQ ID NO:1267)
325	AIP-186826	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:298)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:492)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:686)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:880)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1074)	STWDDSL NVRV (SEQ ID NO:1268)
326	AIP-156514	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:299)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:493)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:687)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:881)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1075)	STWDDSL LVRV (SEQ ID NO:1269)
327	AIP-157122	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:300)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:494)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:688)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:882)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1076)	STWDDSL TVRV (SEQ ID NO:1270)
328	AIP-173276	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:301)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:495)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:689)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:883)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1077)	STWDDSL SIRV (SEQ ID NO:1271)
329	AIP-150485	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:302)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:496)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:690)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:884)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1078)	STWDDSL SVKV (SEQ ID NO:1272)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
330	AIP-135679	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:303)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:497)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:691)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:885)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1079)	STWDDSL SVWV (SEQ ID NO:1273)
331	AIP-166847	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:304)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:498)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:692)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:886)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1080)	STWDDSL SVHV (SEQ ID NO:1274)
332	AIP-124013	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:305)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:499)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:693)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:887)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1081)	STWDDSL SVQV (SEQ ID NO:1275)
333	AIP-126285	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:306)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:500)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:694)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:888)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1082)	STWDDSL SVRI (SEQ ID NO:1276)
334	AIP-190274	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:307)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:501)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:695)	SGSSSDIG SSSVS (SEQ ID NO:889)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1083)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1277)
335	AIP-150277	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:308)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:502)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:696)	HGSESDIG SHDVL (SEQ ID NO:890)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1084)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1278)
336	AIP-104364	GFTFSKAW YS (SEQ ID NO:309)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:503)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:697)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:891)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1085)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1279)
337	AIP-180422	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:310)	RIKSVTDGE TTEYAASVK G (SEQ ID NO:504)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:698)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:892)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1086)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1280)
338	AIP-166722	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:311)	RIKSVTDGE TTEYAASVK G (SEQ ID NO:505)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:699)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:893)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1087)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1281)
339	AIP-193490	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:312)	FIKSVTDGE TTEYAASVK G (SEQ ID NO:506)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:700)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:894)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1088)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1282)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
340	AIP-129967	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:313)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:507)	TSSYCCRS GS CPSSDTSYCN GQFKSYYMD P (SEQ ID NO:701)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:895)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1089)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1283)
341	AIP-126175	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:314)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:508)	TSSFCCRSGS CPSSDTSYCN GQYKSYYVNI (SEQ ID NO:702)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:896)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1090)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1284)
342	AIP-180905	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:315)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:509)	TTSFCCRGAS CP SHDTSYCA GSYKSYYVNI (SEQ ID NO:703)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:897)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1091)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1285)
343	AIP-141706	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:316)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:510)	TSAFCCRGS KS CPSSDTSYCG GQYPSYYVNI (SEQ ID NO:704)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:898)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1092)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1286)
344	AIP-105092	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:317)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:511)	TSAFCCRGS KS CP SHDTSFCG GQDKRYYYVNI (SEQ ID NO:705)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:899)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1093)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1287)
345	AIP-152031	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:318)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:512)	TSAFCCRGGN CP SHETSYCN GQNKQYYMD V (SEQ ID NO:706)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:900)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1094)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1288)
346	AIP-163319	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:319)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:513)	TSSFCCRGNQ CPSSDTSFCG GQDKRYYYMD P (SEQ ID NO:707)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:901)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1095)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1289)
347	AIP-160621	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:320)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:514)	TTSFCCRGNQ CP SHETSYCG GYYKSYYFMD V (SEQ ID NO:708)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:902)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1096)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1290)
348	AIP-145212	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:321)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:515)	TSSYCCRGKQ CP SHDTSYCA GQYADYYMD V (SEQ ID NO:709)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:903)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1097)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1291)
349	AIP-112328	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:322)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:516)	ISSFCCRGS KS GQYADYYMD V (SEQ ID NO:710)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:904)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1098)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1292)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
350	AIP-193106	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:323)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:517)	TSSFCCRQKQ CPSSDTSYCN GQYADYYYVN I (SEQ ID NO:711)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:905)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1099)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1293)
351	AIP-125062	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:324)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:518)	ISSFCCRQKQ CPSSDTSFCG GQDKRYFMD V (SEQ ID NO:712)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:906)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1100)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1294)
352	AIP-124301	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:325)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:519)	TSAFCCRQKQ CPSSDTSYCG GQYASFYYMD V (SEQ ID NO:713)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:907)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1101)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1295)
353	AIP-124068	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:326)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:520)	TSSFCCQGN CPSSDTSYCG GYYKDYFMD V (SEQ ID NO:714)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:908)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1102)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1296)
354	AIP-144568	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:327)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:521)	TSSFCCQGN CPSHDTSYCG GQYKSYFVN I (SEQ ID NO:715)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:909)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1103)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1297)
355	AIP-139782	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:328)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:522)	TSSFCCQGN CPSHDTSYCG GQYADYYYMD V (SEQ ID NO:716)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:910)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1104)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1298)
356	AIP-171543	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:329)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:523)	TTSFCCHGNS CPSSDTSYCG GQNKQYYYMD V (SEQ ID NO:717)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:911)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1105)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1299)
357	AIP-140148	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:330)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:524)	ISSFCCHGNS CPSHDTSYCN GQNKQYYYMD V (SEQ ID NO:718)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:912)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1106)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1300)
358	AIP-177193	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:331)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:525)	ISSFCCHSNN CPSSDTSYCN GQYKQYYYMD V (SEQ ID NO:719)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:913)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1107)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1301)
359	AIP-171348	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:332)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:526)	TSSFCCCHSNN CPSHDTSYCG GQYKSYFVN I (SEQ ID NO:720)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:914)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1108)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1302)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
360	AIP-193088	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:333)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:527)	ISSFACHSNN CPSSDTSYVN GYYKQYYFMD V (SEQ ID NO:721)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:915)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1109)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1303)
361	AIP-182087	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:334)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:528)	TSSFCCHSNN CPSSDTSYCN GQYKQYYVNI (SEQ ID NO:722)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:916)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1110)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1304)
362	AIP-151388	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:335)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:529)	TSSFCCLGKA CLSHDTSYCG GQYASYYYVN I (SEQ ID NO:723)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:917)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1111)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1305)
363	AIP-149787	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:336)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:530)	TSSFCCLGKA CLSSDTSYCG GYYASYYFVN I (SEQ ID NO:724)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:918)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1112)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1306)
364	AIP-126097	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:337)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:531)	TSSFACLGKA CLSSDTSYVG GYYASYYFVN I (SEQ ID NO:725)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:919)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1113)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1307)
365	AIP-107759	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:338)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:532)	TSSYCCLGNS CPSSDTSYCG GQFKSYYMD P (SEQ ID NO:726)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:920)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1114)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1308)
366	AIP-148484	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:339)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:533)	TSSYCCLGNS CPSSDTSFCG GQDKRYYYMD P (SEQ ID NO:727)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:921)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1115)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1309)
367	AIP-186403	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:340)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:534)	ISSFCCLGNN CPSSDTSYCG NQYPSYYMD V (SEQ ID NO:728)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:922)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1116)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1310)
368	AIP-166629	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:341)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:535)	ISSFCCLGNN CPSSDTSYCG NYYPYFYMD V (SEQ ID NO:729)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:923)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1117)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1311)
369	AIP-165276	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:342)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:536)	TSSFCCLGNN CPSSDTSYCG NQYPSYYYVN I (SEQ ID NO:730)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:924)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1118)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1312)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
370	AIP-188293	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:343)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:537)	TTSFACRGNQ CPSHETSYVG GYYKSYFYMD V (SEQ ID NO:731)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:925)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1119)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1313)
371	AIP-109364	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:344)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:538)	TTSFACRGNQ CPSSETSYVG GYYKSYFFMD V (SEQ ID NO:732)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:926)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1120)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1314)
372	AIP-191805	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:345)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:539)	ISSFACRQKQ CPSSDTSYVG GQFKSYFYMD V (SEQ ID NO:733)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:927)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1121)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1315)
373	AIP-181592	GFTFAKAW MS (SEQ ID NO:346)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:540)	TSSFCCRGGG CLSHDTSYCG GQYKSYWMD V (SEQ ID NO:734)	SGSSTNIG SSSVY (SEQ ID NO:928)	KNNYRPS (SEQ ID NO: 1122)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1316)
374	AIP-155587	GFTYAKAW MS (SEQ ID NO:347)	RIKSVQDGE QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:541)	TSSYCCLGGS CPSHDTSYCG GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:735)	SGSSTNIG SSSVY (SEQ ID NO:929)	KNNYRAS (SEQ ID NO: 1123)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1317)
375	AIP-147945	GFDASKAW FT (SEQ ID NO:348)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:542)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQNKQYYMD V (SEQ ID NO:736)	TGSSSNIG SSYVS (SEQ ID NO:930)	KNSLRPQ (SEQ ID NO: 1124)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1318)
376	AIP-199264	GFDASKAW FT (SEQ ID NO:349)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:543)	TTSFACRGGG CPSHDTSYVG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:737)	TGSSSNIG SSYVS (SEQ ID NO:931)	KNSLRPQ (SEQ ID NO: 1125)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1319)
377	AIP-123438	GFDASKAW FT (SEQ ID NO:350)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:544)	TSSYCCLGGS CPSHDTSYCG GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:738)	TGSSSNIG SSYVS (SEQ ID NO:932)	KNSLRPQ (SEQ ID NO: 1126)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1320)
378	AIP-151315	GFDASKAW FT (SEQ ID NO:351)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:545)	TSSFCCRQKS CPSHDTSYCG GQYASYYMD V (SEQ ID NO:739)	TGSSSNIG SSYVS (SEQ ID NO:933)	KNSLRPQ (SEQ ID NO: 1127)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1321)
379	AIP-197785	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:352)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:546)	TSSFCCRGGN CPSHETSYCG NQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:740)	SGSPSNIG SASTS (SEQ ID NO:934)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1128)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1322)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
380	AIP-115782	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:353)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:547)	TSSFCCRSGS CPSSDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:741)	SGSPSNIG SASTS (SEQ ID NO:935)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1129)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1323)
381	AIP-138130	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:354)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:548)	TSSFCCRSGS CPSHDTSYCG GQYKSYYYVN I (SEQ ID NO:742)	SGSPSNIG SASTS (SEQ ID NO:936)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1130)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1324)
382	AIP-170221	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:355)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:549)	TTSFCCRGAS CPSHDTSYCA GSYKSYYYMD V (SEQ ID NO:743)	SGSPSNIG SASTS (SEQ ID NO:937)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1131)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1325)
383	AIP-167482	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:356)	RIKAADDGK QTDYAAPVK G (SEQ ID NO:550)	ISSFCCRGNS CPSSDTSYCN GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:744)	SGSPSNIG SASTS (SEQ ID NO:938)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1132)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1326)
384	AIP-189475	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:357)	RIKAVTDGH TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:551)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:745)	SGASSNIG HSSVY (SEQ ID NO:939)	RNNQQPL (SEQ ID NO:1133)	STWDDAL SIRV (SEQ ID NO:1327)
385	AIP-102833	GFVYSKAW MS (SEQ ID NO:358)	RIKSVTDGQ ATDYAAPVK G (SEQ ID NO:552)	TSSFCCRGGG CPSHDTSYCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:746)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:940)	KNTQRAS (SEQ ID NO:1134)	STWDDAL NVRV (SEQ ID NO:1328)
386	AIP-173396	GFVFSKAW MS (SEQ ID NO:359)	RIKSVTDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:553)	TSSFCCRGKS CPSHDTSYCG GQYASYYMD V (SEQ ID NO:747)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:941)	RNNQQPL (SEQ ID NO:1135)	SSWDDSS LVRV (SEQ ID NO:1329)
387	AIP-132355	GFTFAKAW MS (SEQ ID NO:360)	RIKSVTDAE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:554)	TSSFCCRSGS CPSSDTSYCN GQYKSYWMD V (SEQ NO:748)	SGSSSNIG SSSVT (SEQ ID NO:942)	KNNARPS (SEQ ID NO:1136)	ATWDNSL SIRV (SEQ ID NO:1330)
388	AIP-118505	GFTYAKAW FT (SEQ ID NO:361)	RIKSTSDGG ITDYAAPVK G (SEQ ID NO:555)	TSSFCCRGGG CPSHDTSFCG GQYKSYYYMD V (SEQ ID NO:749)	SGSKSNIG SSVVS (SEQ ID NO:943)	KDNQRAS (SEQ ID NO:1137)	STWDDAL SVRV (SEQ ID NO:1331)
389	AIP-131972	GFTFSKAW MS (SEQ ID NO:362)	RIKSVSDGE TTDYAAPVK G (SEQ ID NO:556)	TSSFCCRGGG CP SRDTSYCG GQYKSYFMD V (SEQ ID NO:750)	SGSSSNIG SSVVY (SEQ ID NO:944)	KNNQRPS (SEQ ID NO:1138)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1332)

ES 2 956 413 T3

	Número AIP	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
390	AIP- 189526	GFTFSKAW MT (SEQ ID NO:171)	RIKSTSDGG ITDYAAPVK G (SEQ NO:555)	TTSFCCRGR CPSRDTSEFCG GQYNSYYMD V (SEQ ID NO:1727)	SGSSSNIG SSSVS (SEQ ID NO:943)	KNNQRPS (SEQ ID NO: 1138)	STWDDSL SVRV (SEQ ID NO:1332)

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo que se une al tejido tumoral, en donde el anticuerpo se une a un complejo extracelular de ARN-proteína y en donde el anticuerpo comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

5 una HCDR1 que comprende una secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1), o una HCDR1 variante en la que se sustituye 1 aminoácido en relación con la secuencia;

una HCDR2 que comprende una secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9), o una HCDR2 variante en la que se sustituye 1 aminoácido en relación con la secuencia; y

10 una HCDR3 que comprende una secuencia TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21), o una HCDR3 variante en la que se sustituyen 1, 2 o 3 aminoácidos en relación con la secuencia;

una región variable de cadena ligera que comprende:

una LCDR1 que comprende una secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48), o una LCDR1 variante en la que se sustituye 1 aminoácido en relación con la secuencia;

15 una LCDR2 que comprende una secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59), o una LCDR2 variante en la que se sustituye 1 aminoácido en relación con la secuencia; y

una LCDR3 que comprende una secuencia STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68), o una LCDR3 variante en la que se sustituye 1 aminoácido en relación con la secuencia.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

20 una HCDR1 que comprende una secuencia GFTFSKAWMS (SEQ ID NO: 1);

una HCDR2 que comprende una secuencia RIKSVTDGETTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 9); y

una HCDR3 que comprende una secuencia TSSFCCRGGSCPSHDTSYCGGQKSYYYMDV (SEQ ID NO: 21);

una región variable de cadena ligera que comprende:

25 una LCDR1 que comprende una secuencia SGSSSNIGSSSVS (SEQ ID NO: 48);

una LCDR2 que comprende una secuencia KNNQRPS (SEQ ID NO: 59); y

una LCDR3 que comprende una secuencia STWDDSLSVRV (SEQ ID NO: 68).

3. El anticuerpo de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde V_H comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con

30 EVQLVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFTFSKAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSVT
DGETTDYAAPVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSSFCCRGGSCPSH
DTSYCGGQKSYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 94);

y la V_L comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSSSVSWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSTWDDSLSVRVFGGGTKLTVL (SEQ ID
NO: 140).

35 4. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de región constante de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1721 y una secuencia de región constante de cadena ligera de la SEQ ID NO: 1722.

5. El anticuerpo de la reivindicación 4, en donde la cadena pesada comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 1723 y la cadena ligera comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 1724.

6. Un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en terapia mediante la inducción de una

respuesta inmune.

7. Un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un método de tratamiento del cáncer, en un paciente que tiene un tumor que comprende un complejo extracelular de ARN-proteína.
- 5 8. El anticuerpo para su uso de la reivindicación 7, en donde el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de riñón, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de útero, cáncer de hígado, cáncer de vejiga o cáncer testicular.
9. El anticuerpo para su uso de la reivindicación 8, en donde el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama triple negativo, cáncer colorrectal, cáncer de ovario o melanoma.
- 10 10. El anticuerpo para su uso de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde el anticuerpo se administra por vía intravenosa.
11. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el tratamiento comprende, además:
 - (a) quimioterapia y/o radioterapia; y/o
 - (b) un agente que se dirige a un antígeno de punto de control inmunológico.
- 15 12. El anticuerpo para su uso de la reivindicación 11(b), en donde el agente es un anticuerpo monoclonal, opcionalmente en donde el anticuerpo monoclonal bloquea la unión del ligando PD-1 a PD-1, opcionalmente en donde el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo anti-PD-1.
- 20 13. Un método para identificar a un paciente que tiene un tumor que comprende un complejo extracelular de ARN-proteína, comprendiendo el método poner en contacto una muestra tumoral del paciente con un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
14. Un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica la región V_H y la región V_L del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
15. Una célula huésped que comprende:
 - el vector de expresión de la reivindicación 14; o
 - 25 un polinucleótido que codifica la región V_H y la región V_L del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
16. La célula huésped de la reivindicación 15, en donde la célula huésped es una célula CHO, opcionalmente una célula CHO K-1.
- 30 17. Un método para producir un anticuerpo, comprendiendo el método cultivar una célula huésped de la reivindicación 15 en condiciones en las que se expresan el polinucleótido que codifica la cadena pesada y el polinucleótido que codifica la cadena ligera.
18. Un método para identificar un anticuerpo que tiene actividad antitumoral, comprendiendo el método mutagenizar un polinucleótido que codifica una CDR3 de V_H o V_L de un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, expresar un anticuerpo que comprende la CDR3 de V_H o V_L mutagenizada; y seleccionar un anticuerpo que inhiba el crecimiento tumoral o disminuya el tamaño tumoral, la invasión tumoral y/o la metástasis *in vivo*.
- 35

Identificación de Ab Líder en el Cribado del Combinado con Terapia de Combinación anti-PD1

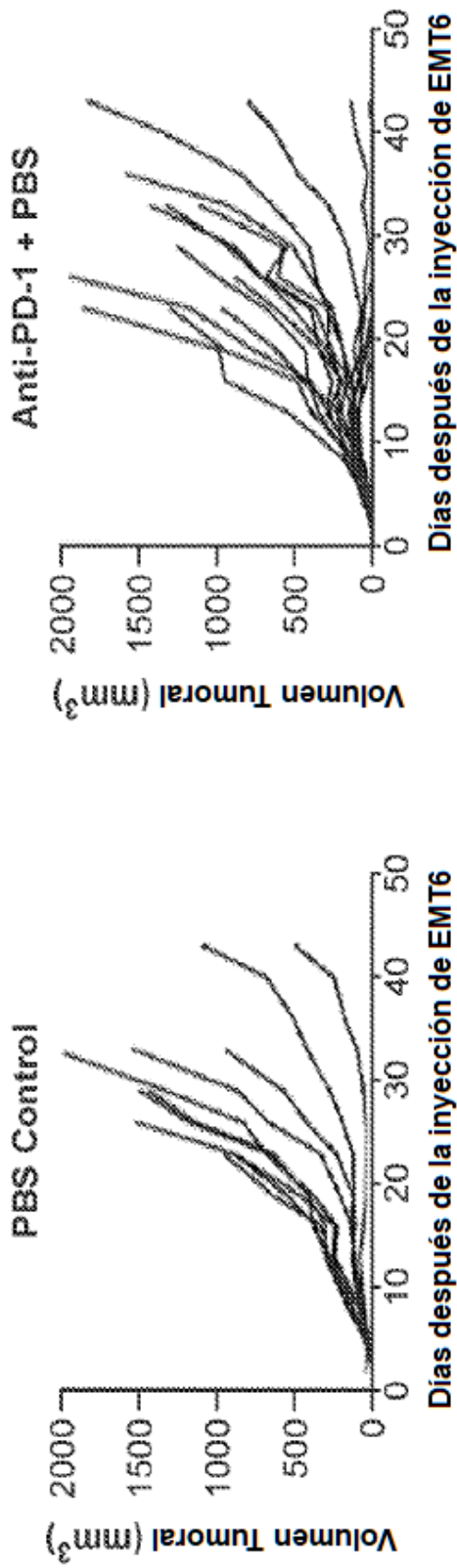


FIG. 1B

FIG. 1A

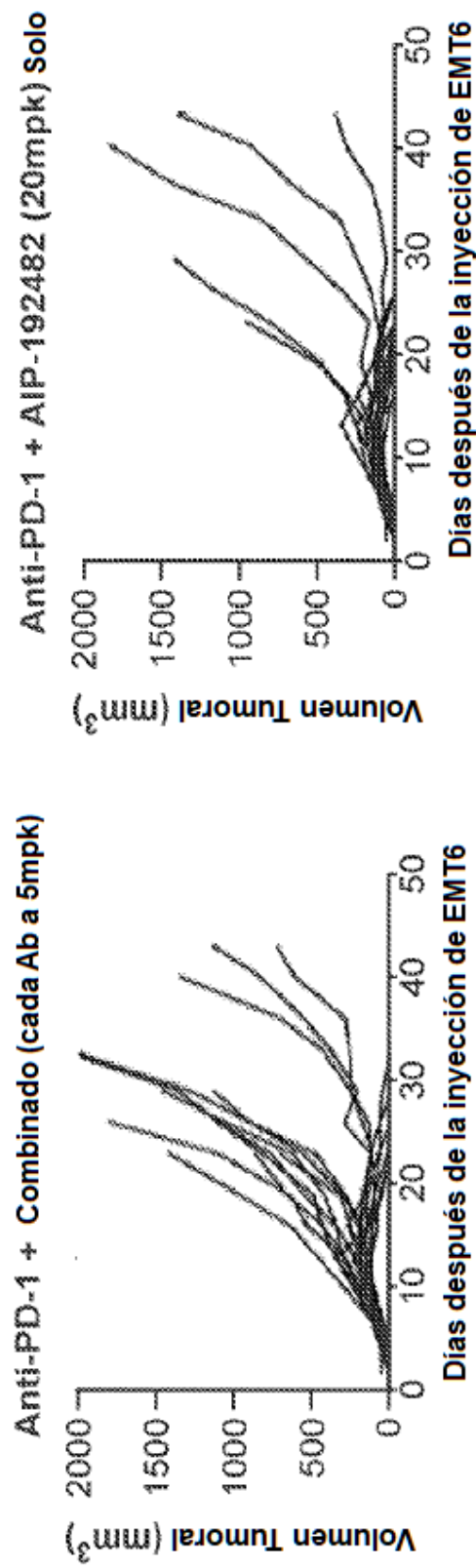


FIG. 1D

FIG. 1C

Variantes Líder de Primera Generación en el Crecimiento Tumoral del Modelo de Tumor EMT6

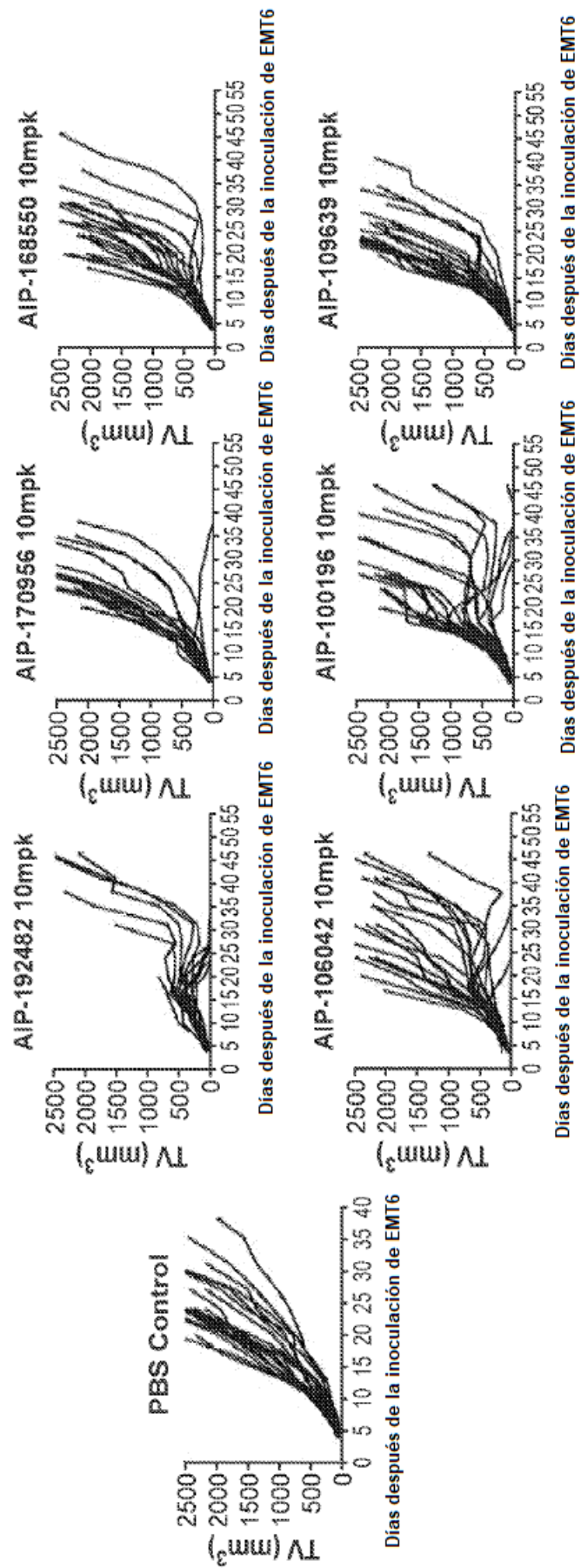


FIG. 2A

Variantes Lider de Primera Generación en el Crecimiento Tumoral del Modelo de Tumor EMT6

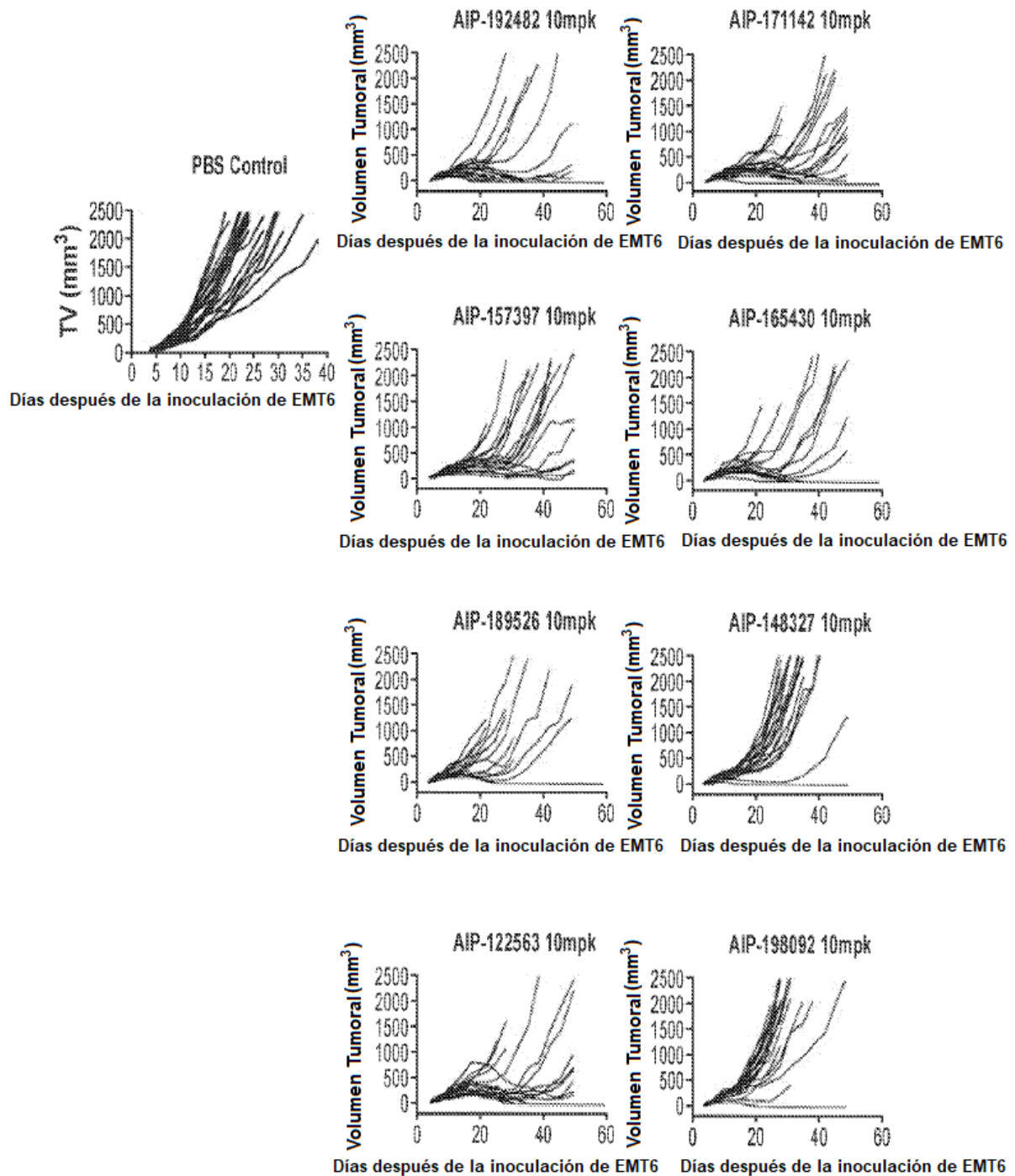


FIG. 2B

Efecto de la Dosificación de la Variante en Monoterapia sobre la Supervivencia del Modelo Tumoral EMT6

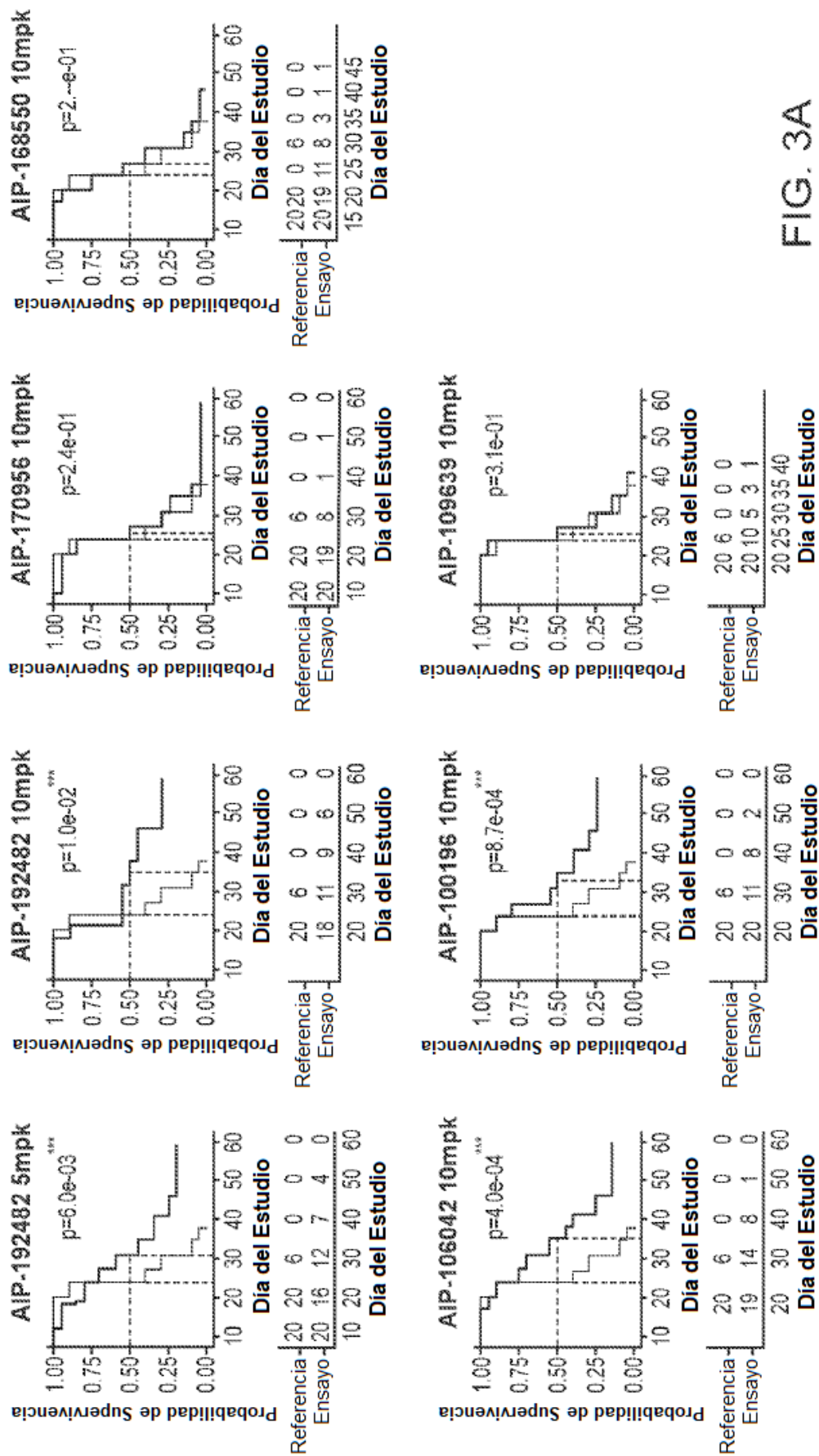


FIG. 3A

Efecto de la Dosificación de la Variante sobre la Supervivencia del Modelo Tumoral EMT6

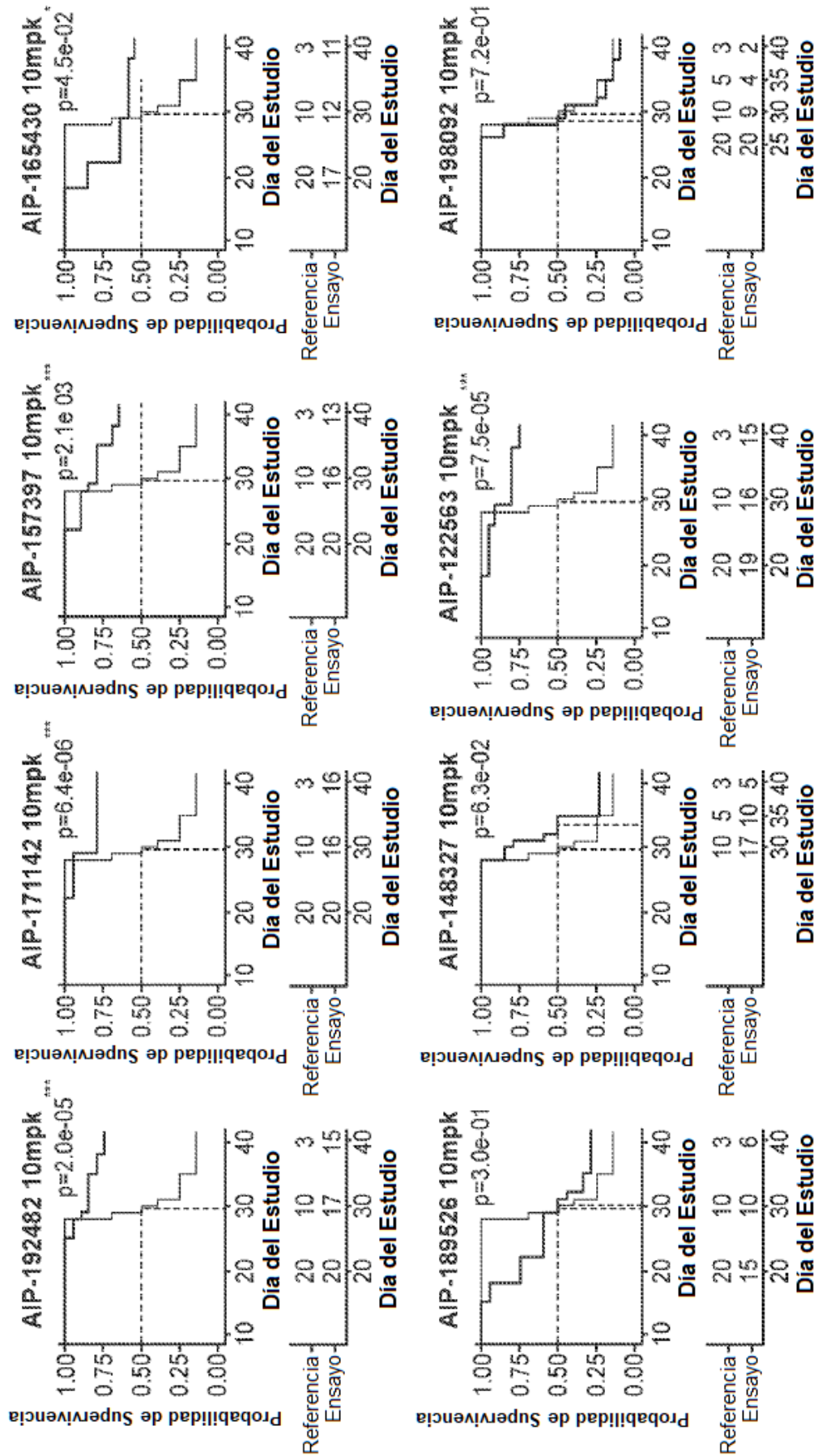


FIG. 3B

**Variantes Líder de Primera Generación - Efecto sobre el Volumen Tumoral:
NAAC para variantes en el Modelo Tumoral EMT6**

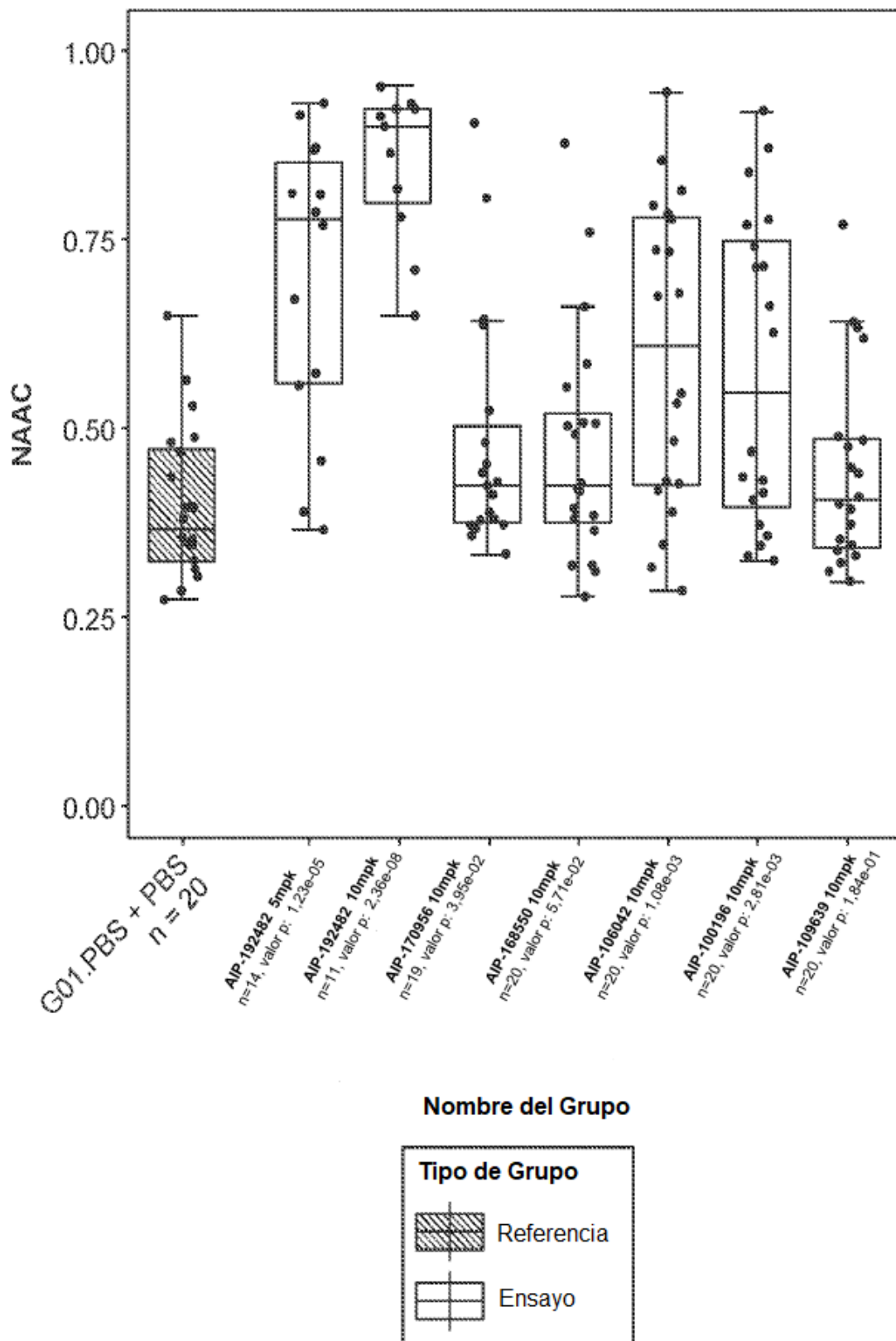


FIG. 4A

**Variantes Líder de Primera Generación - Efecto sobre el Volumen Tumoral:
NAAC para variantes en el Modelo Tumoral EMT6**

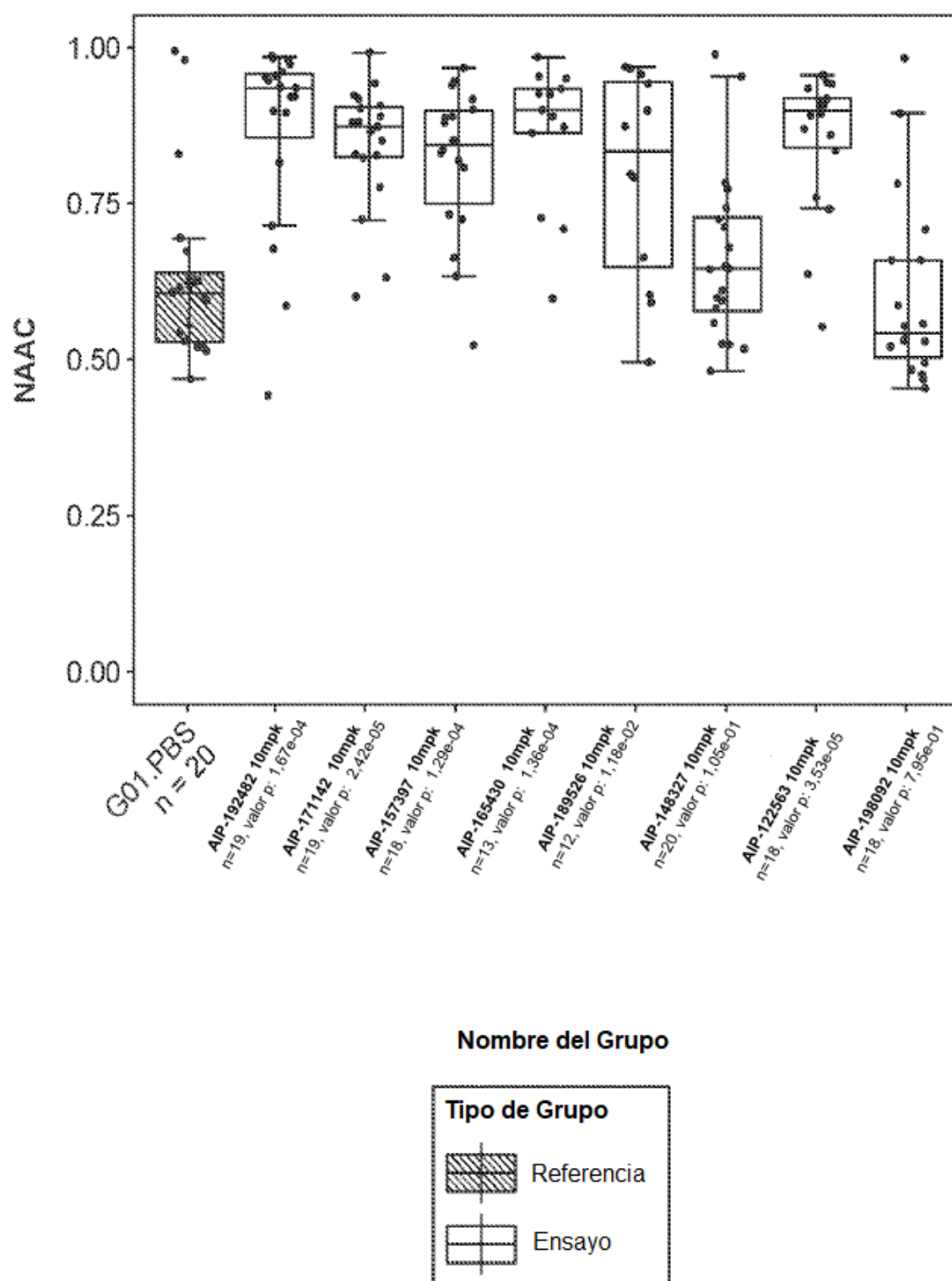


FIG. 4B

Variantes en el Modelo de Tumor EMT6 - Crecimiento Tumoral

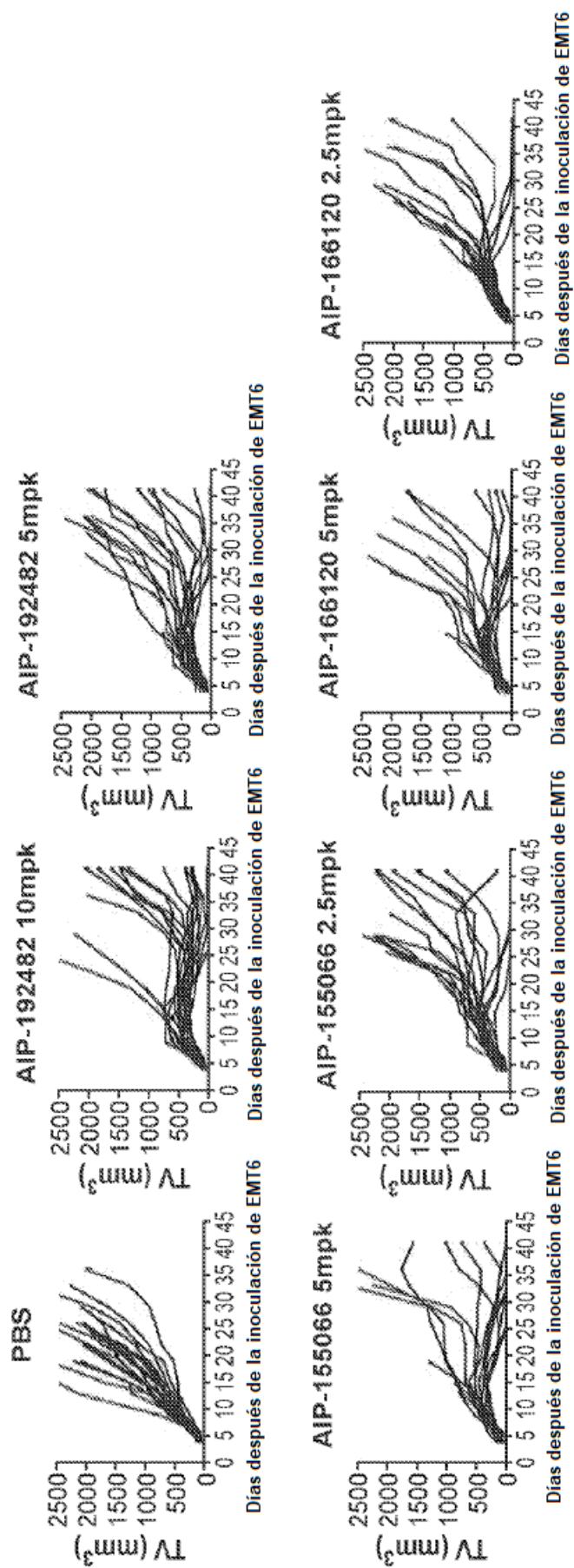


FIG. 5A

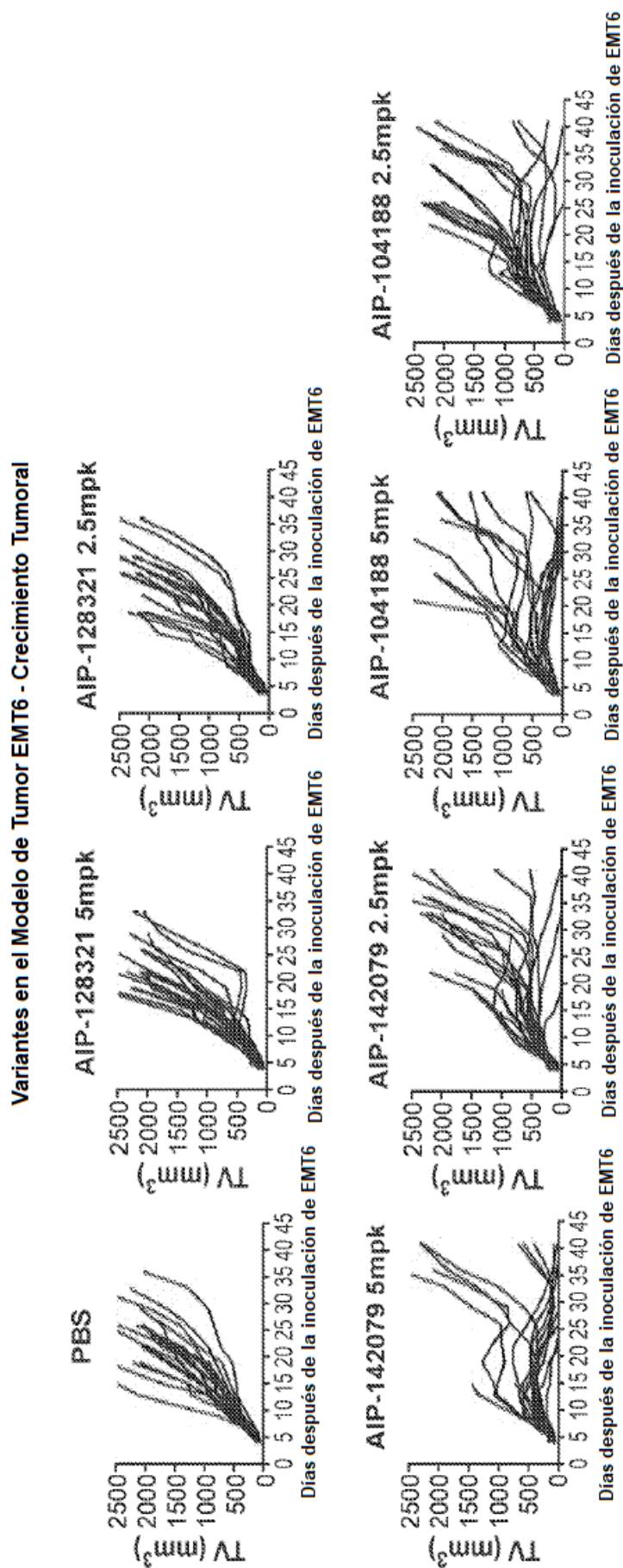


FIG. 5B

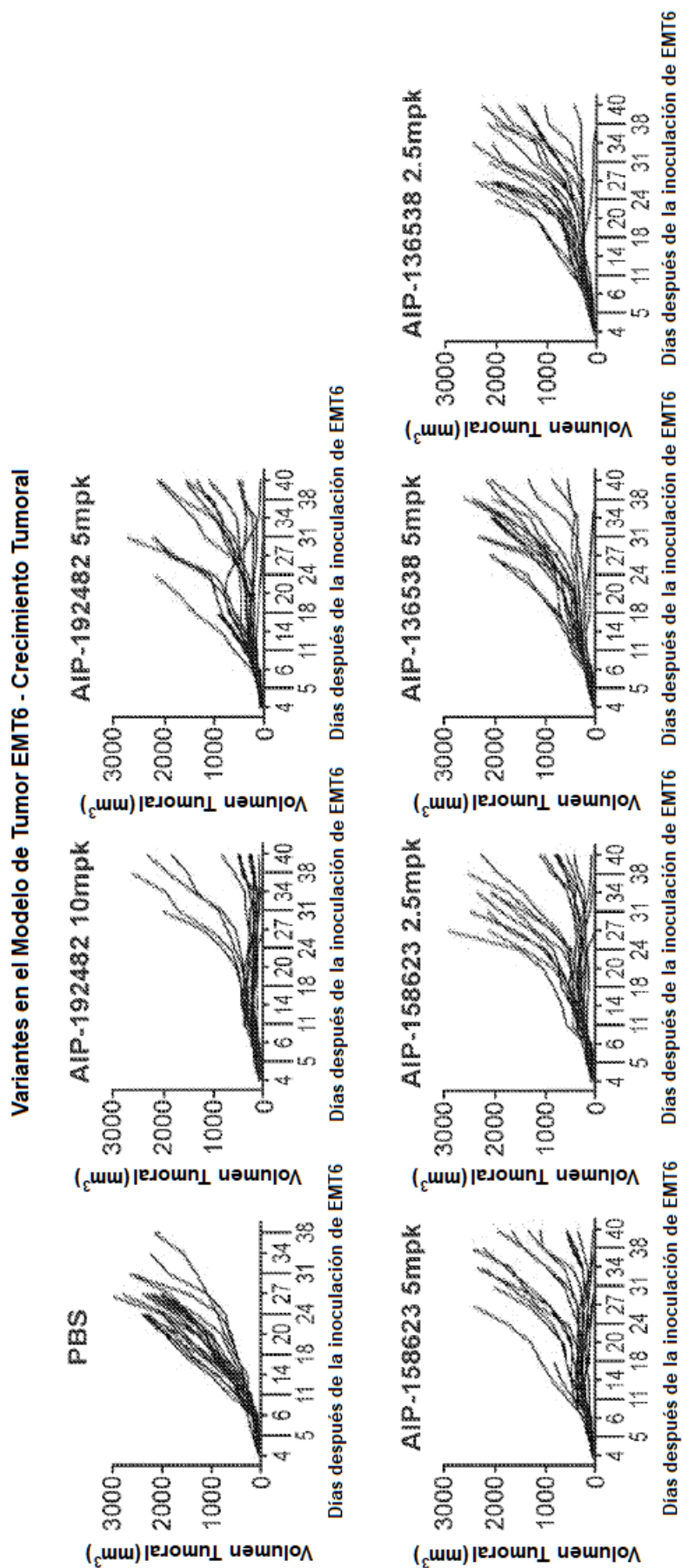


FIG. 5C

Variantes en el Modelo de Tumor EMT6 - Crecimiento Tumoral

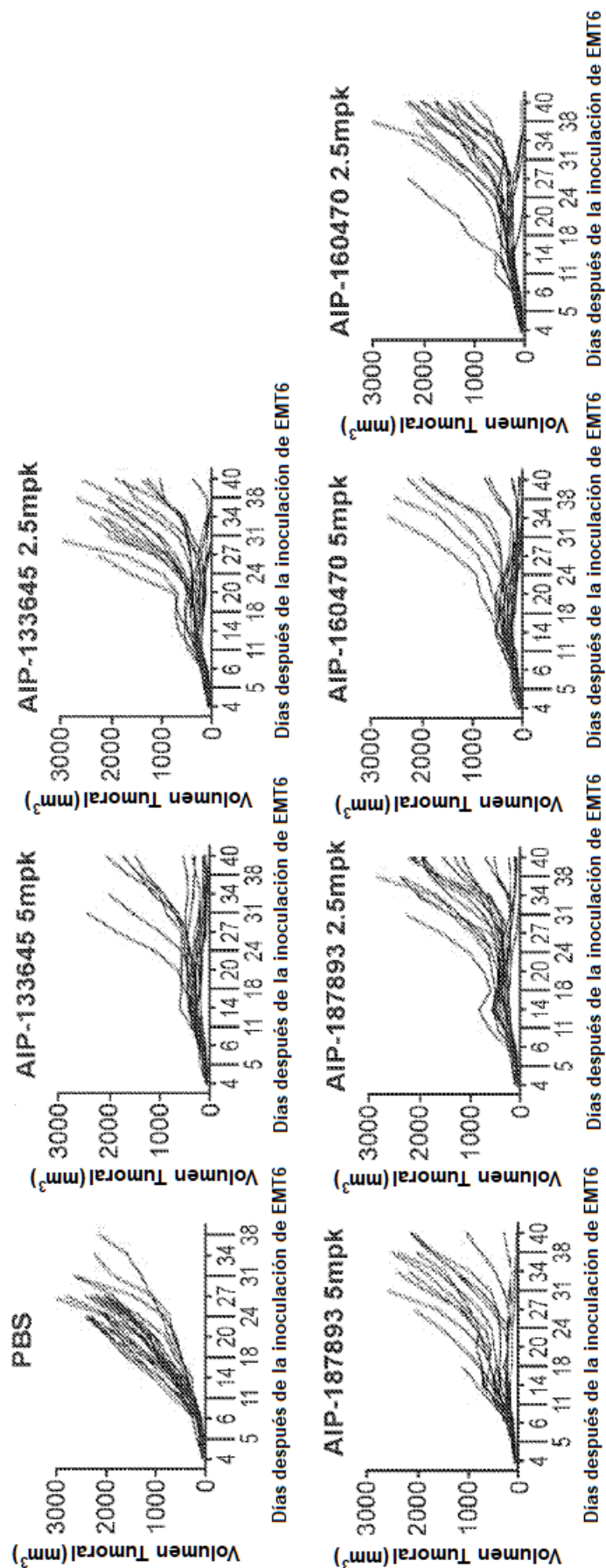


FIG. 5D

Efecto sobre la Supervivencia en el Modelo Tumoral EMT6

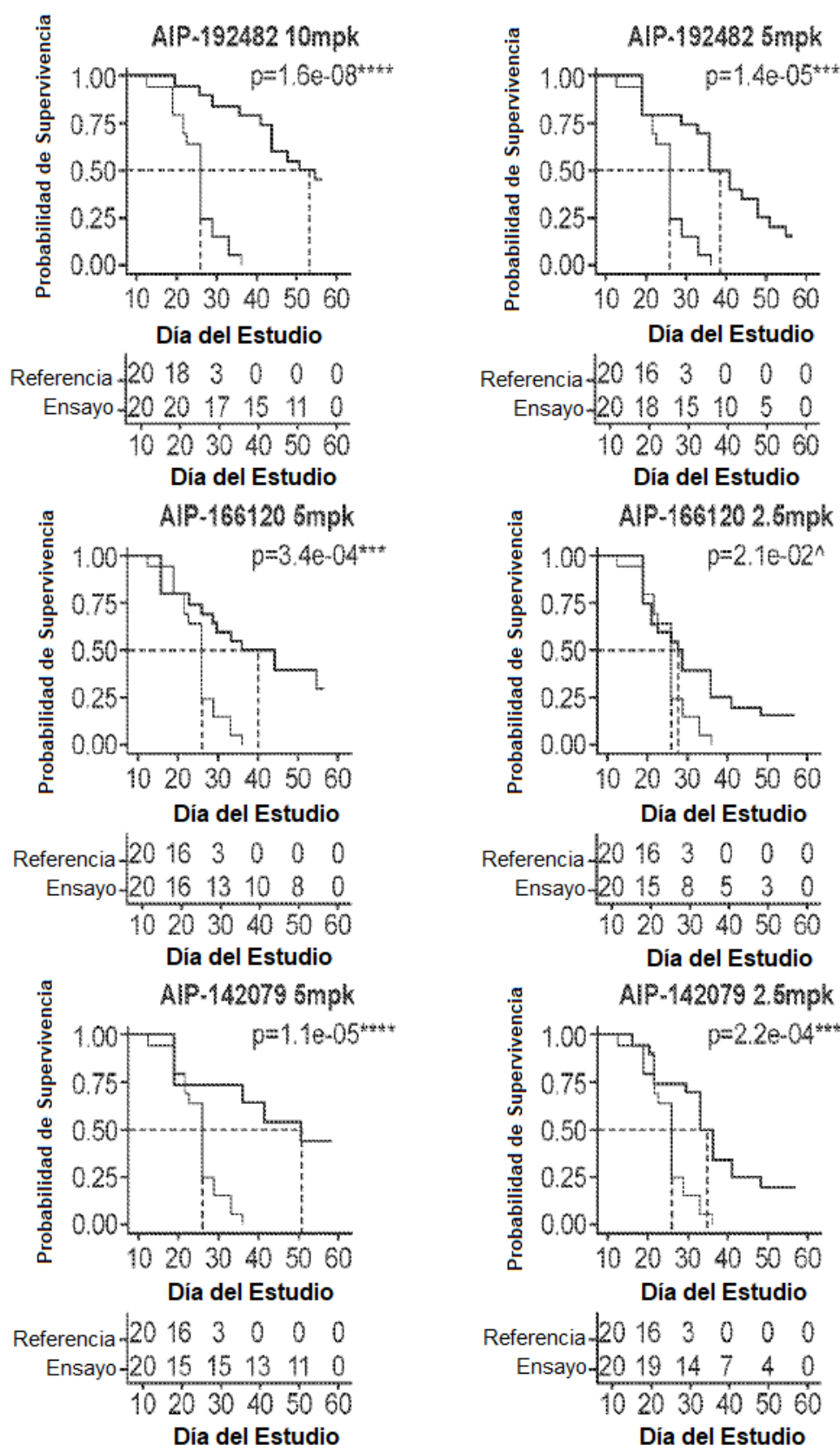


FIG. 6A

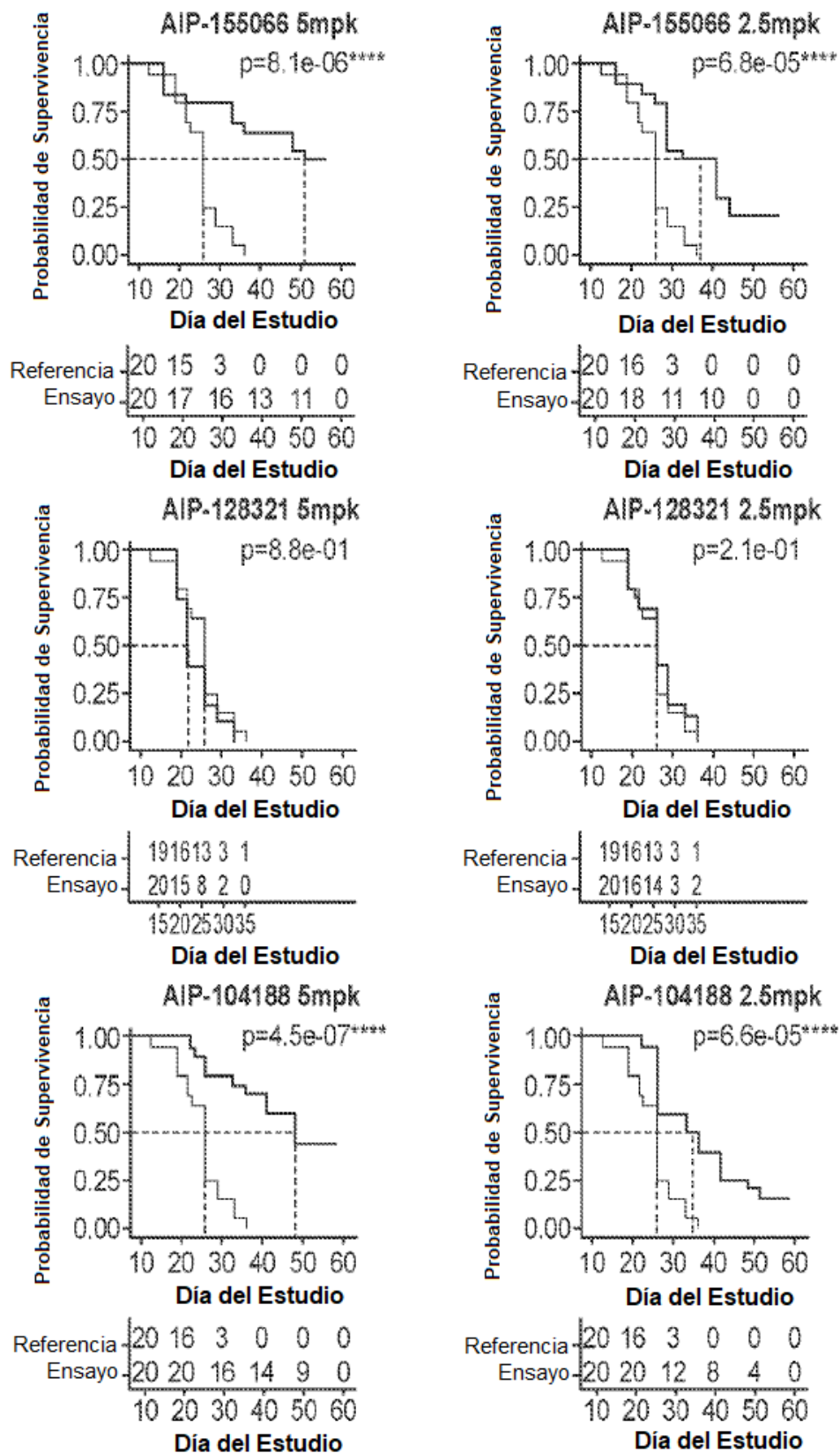


FIG. 6A (Cont.)

Efecto sobre la Supervivencia en el Modelo Tumoral EMT6

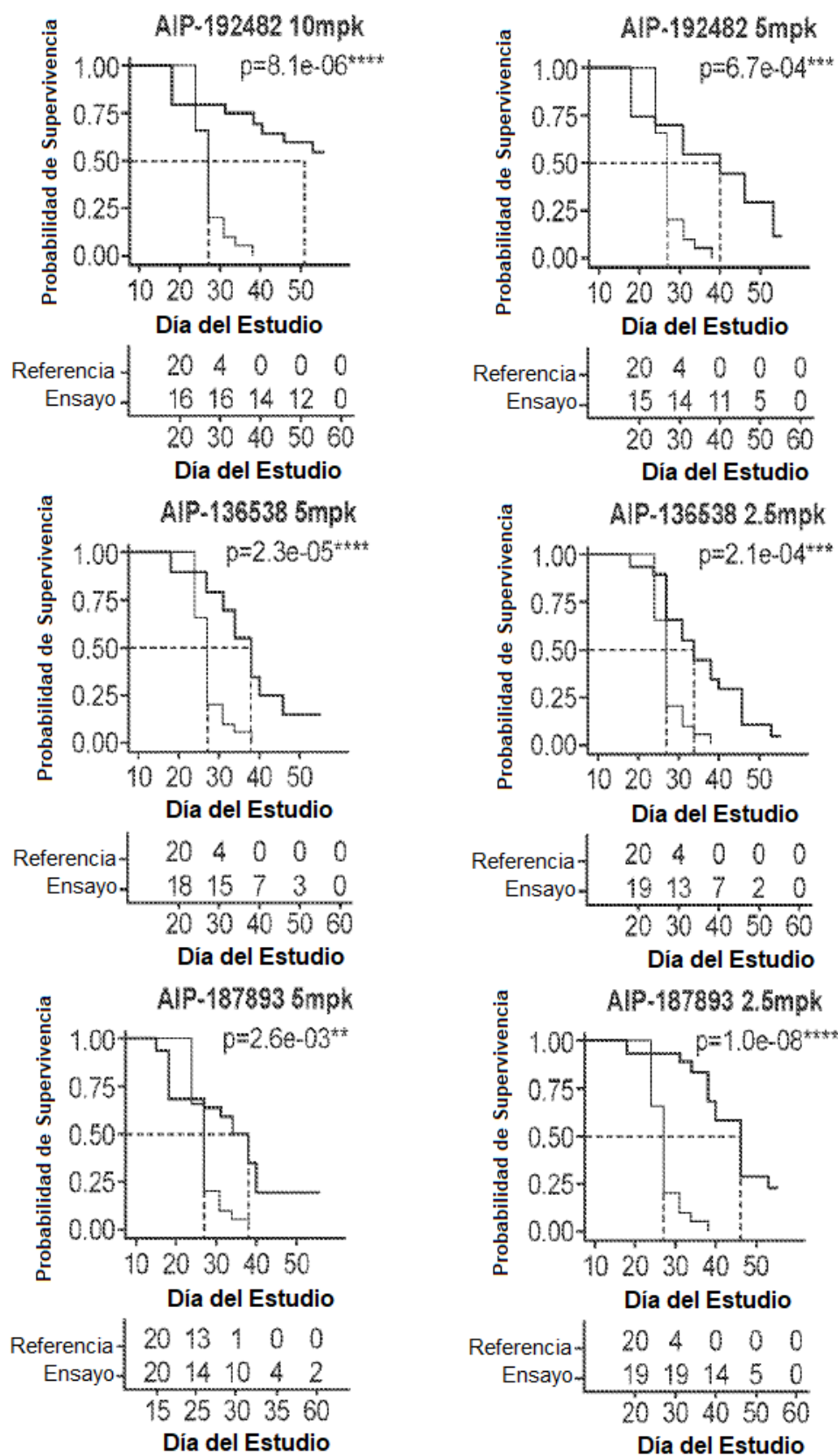


FIG. 6B

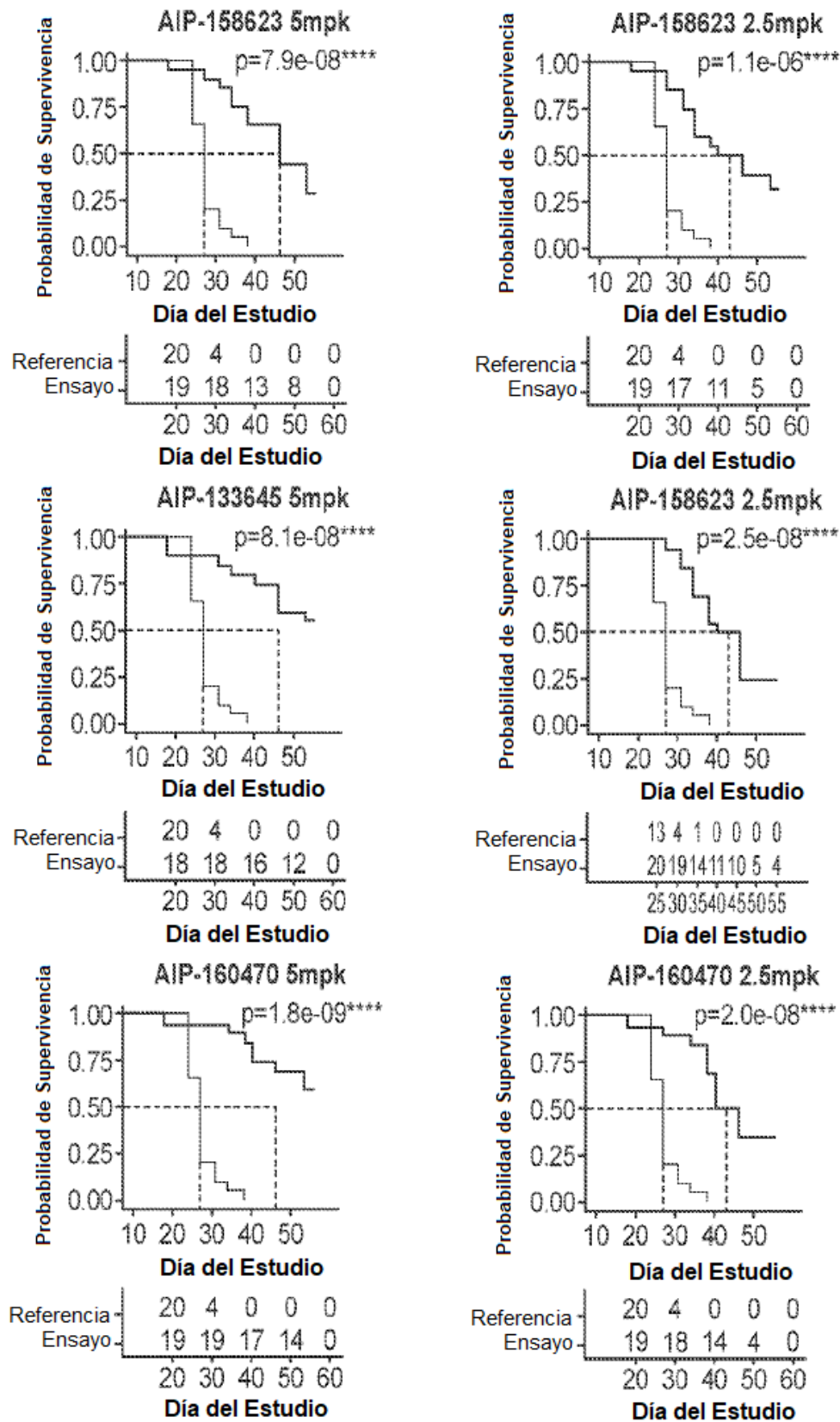


FIG. 6B (Cont.)

Efecto sobre el Volumen Tumoral: NAAC para variantes en el Modelo Tumoral EMT6

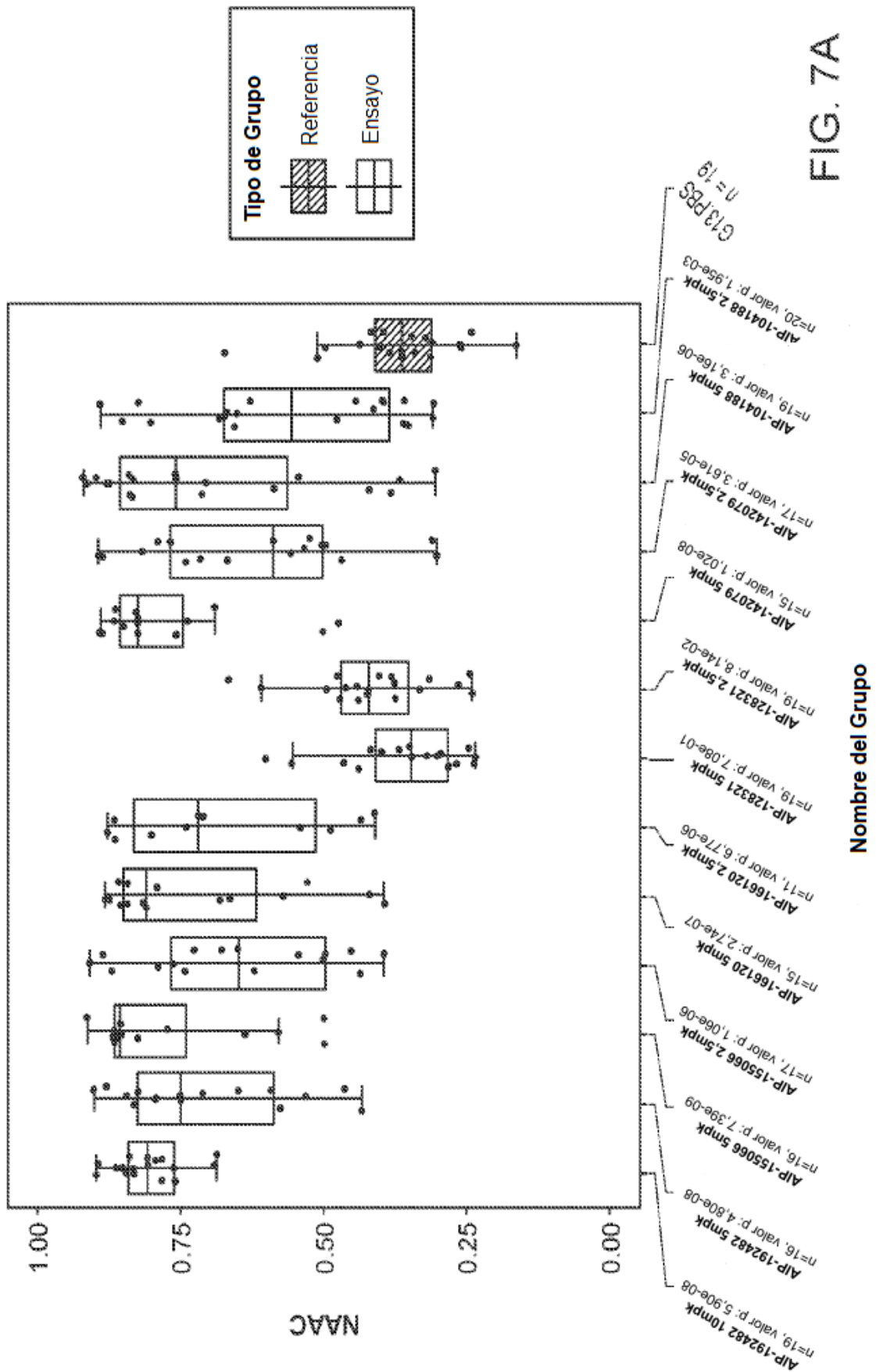


FIG. 7A

Efecto sobre el Volumen Tumoral: NAAC para variantes en el Modelo Tumoral EMT6

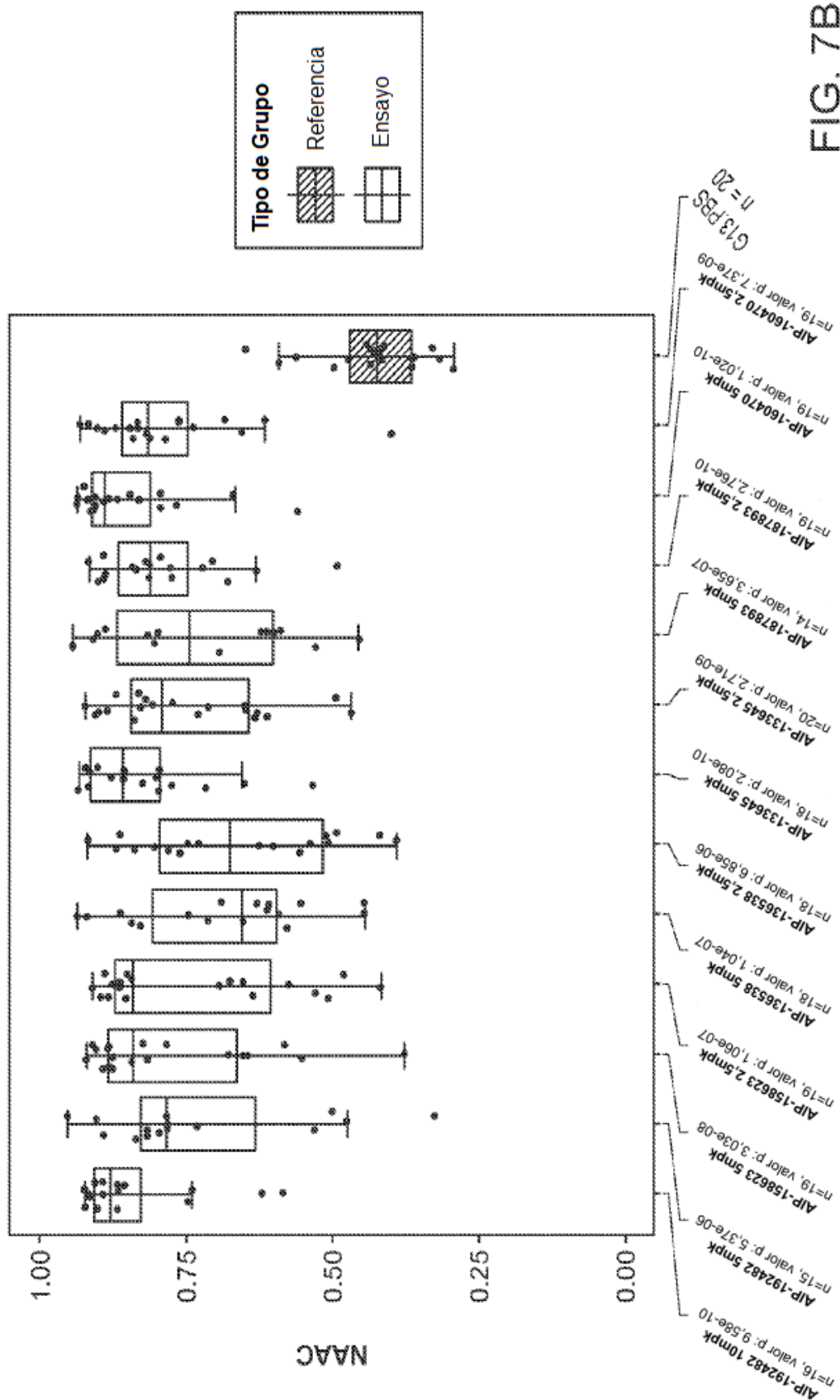


FIG. 7B

Diseño del Estudio

Grupos	No. de ratones	Artículo 1				Artículo 2			
			mpk	Frecuencia	Ruta		mpk	Frecuencia	Ruta
1	20	PD1 + AIP-192482	10	TWx2	i.p.	AIP-192482	5	TWx3.5	i.p.
2	20	PD1 + AIP-192482	10	TWx2	i.p.	AIP-192482	10	TWx3.5	i.p.
3	20	PD1 + AIP-133645	10	TWx2	i.p.	AIP-133645	5	TWx3.5	i.p.
4	20	PD1 + AIP-133645	10	TWx2	i.p.	AIP-133645	2.5	TWx3.5	i.p.
5	20	PD1 + AIP-160470	10	TWx2	i.p.	AIP-160470	5	TWx3.5	i.p.
6	20	PD1 + AIP-160470	10	TWx2	i.p.	AIP-160470	2.5	TWx3.5	i.p.
7	20	PBS + AIP-192482	0	TWx2	i.p.	AIP-192482	5	TWx3.5	i.p.
8	20	PBS + AIP-192482	0	TWx2	i.p.	AIP-192482	10	TWx3.5	i.p.
9	20	PBS + AIP-133645	0	TWx2	i.p.	AIP-133645	5	TWx3.5	i.p.
10	20	PBS + AIP-133645	0	TWx2	i.p.	AIP-133645	2.5	TWx3.5	i.p.
11	20	PBS + AIP-160470	0	TWx2	i.p.	AIP-160470	5	TWx3.5	i.p.
12	20	PBS + AIP-160470	0	TWx2	i.p.	AIP-160470	2.5	TWx3.5	i.p.
13	20	AIP-192482 (células CHO)	0	TWx2	i.p.	AIP-192482	10	TWx3.5	i.p.
14	20	PD1 + PBS	10	TWx2	i.p.	Vehículo	0	TWx3.5	i.p.
15	20	PBS + PBS	0	TWx2	i.p.	Vehículo	0	TWx3.5	i.p.

FIG. 8

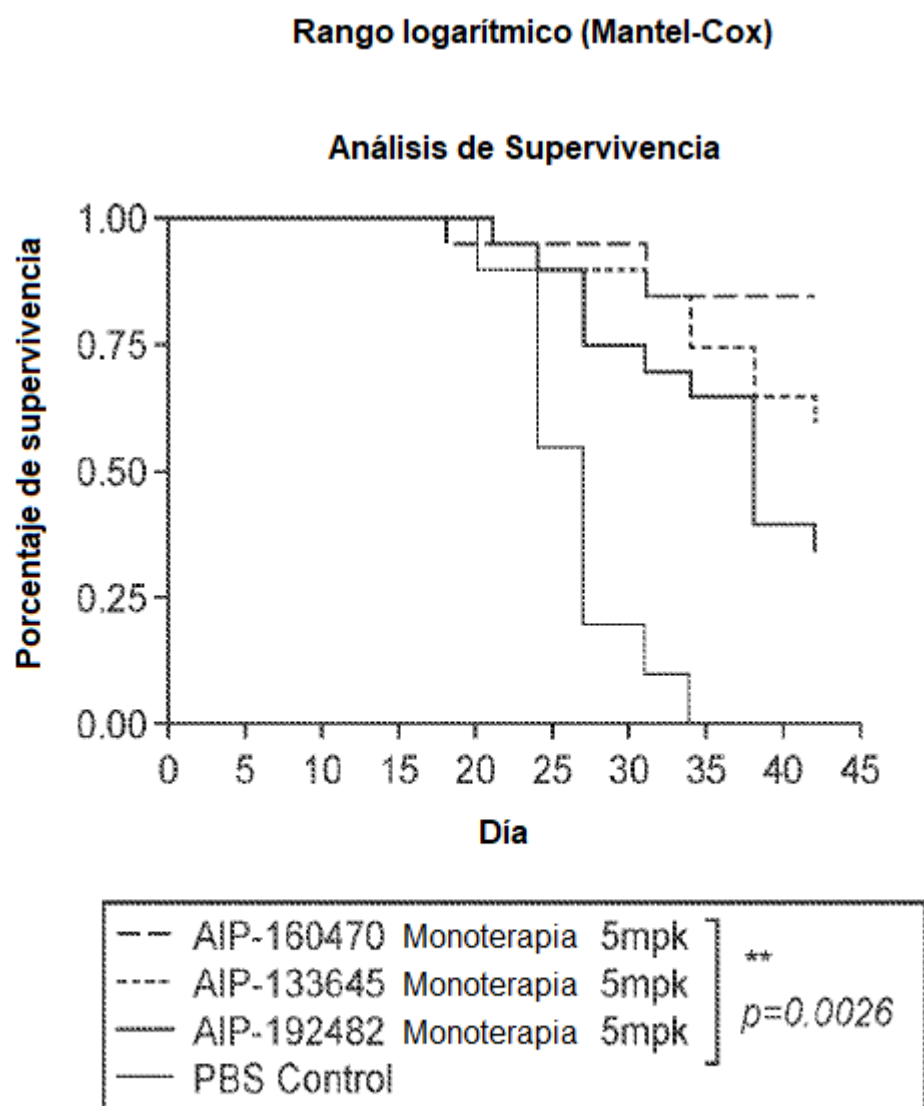
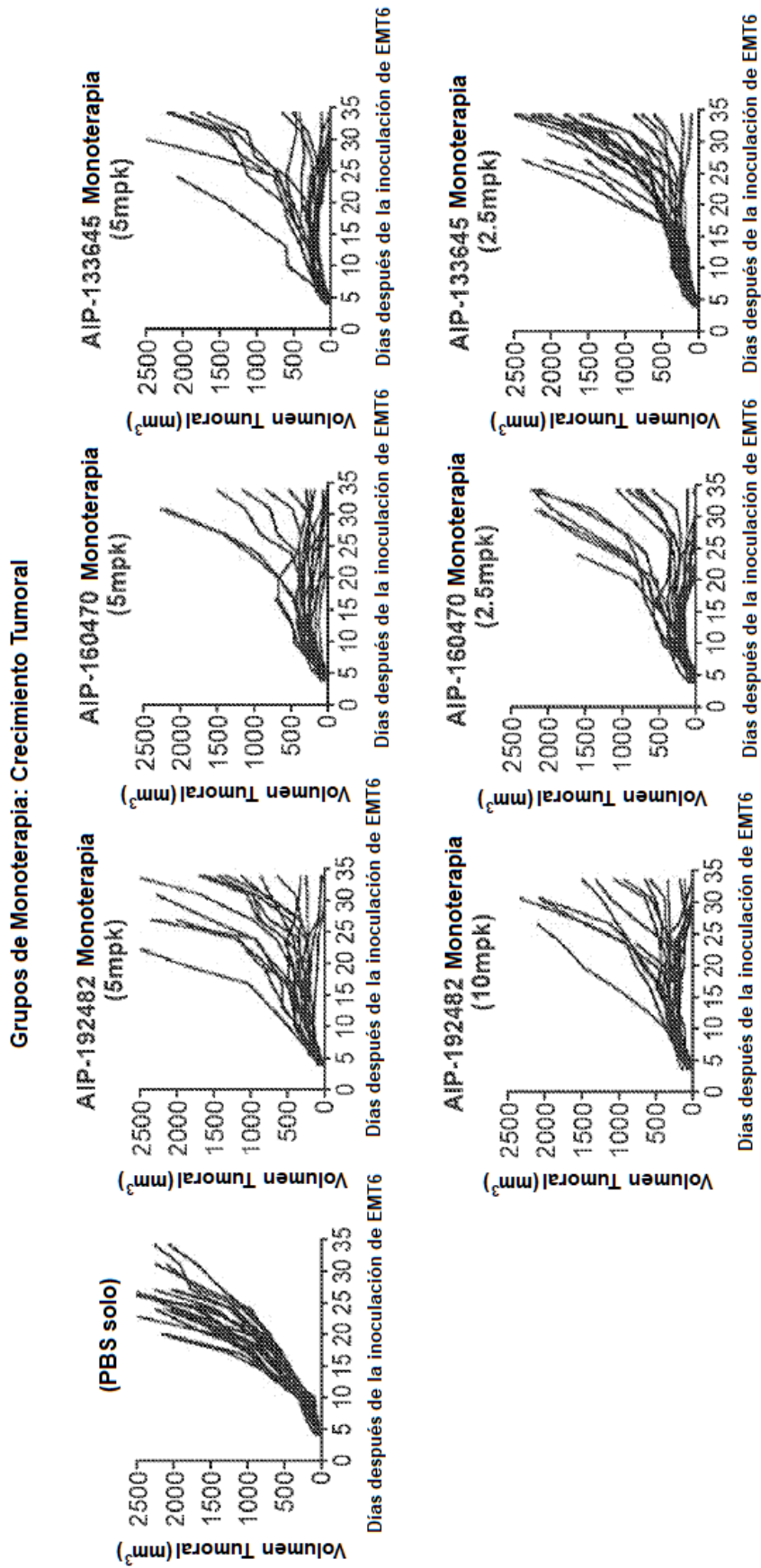


FIG. 9



Grupos de Monoterapia: Análisis de Supervivencia

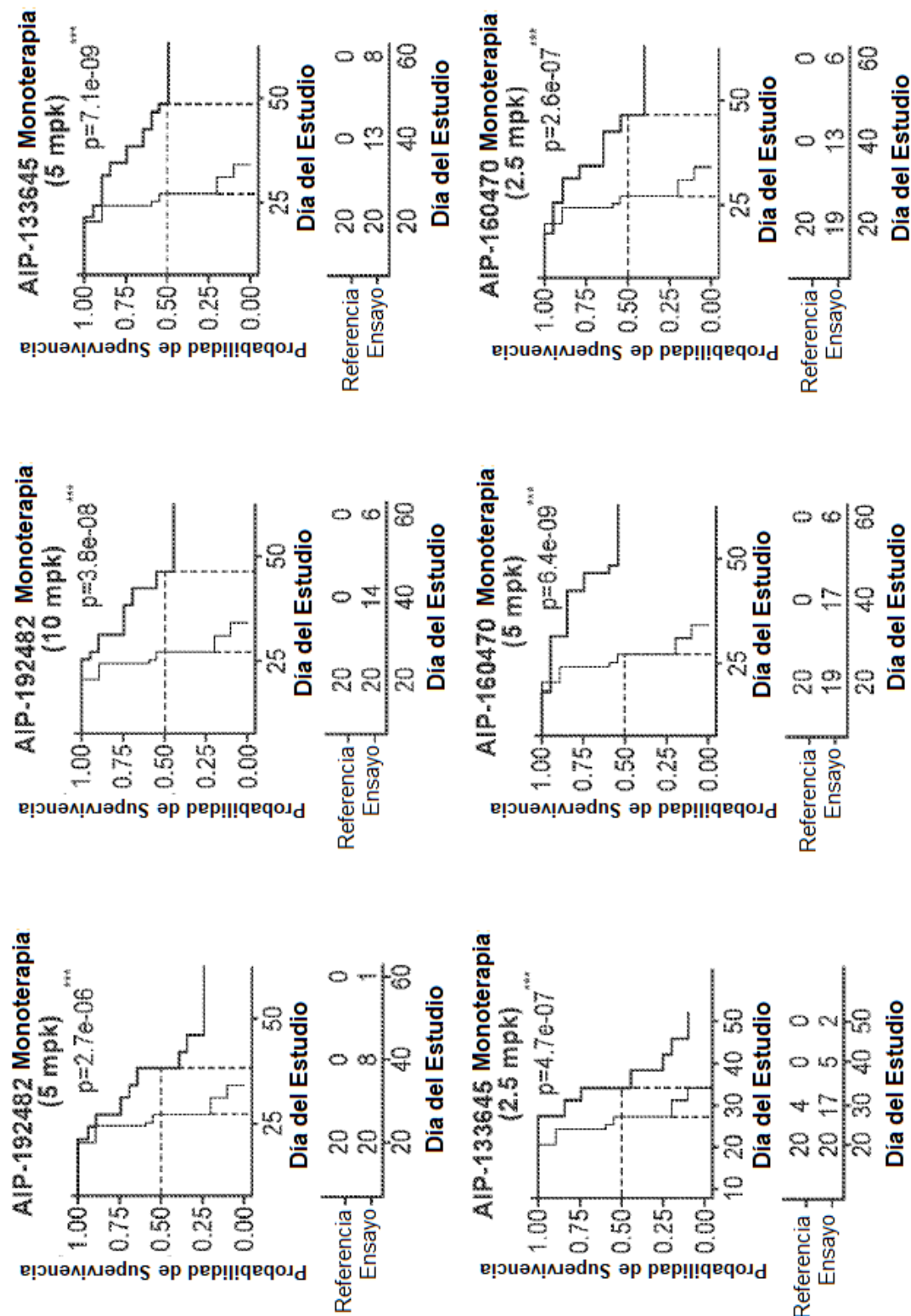


FIG. 11

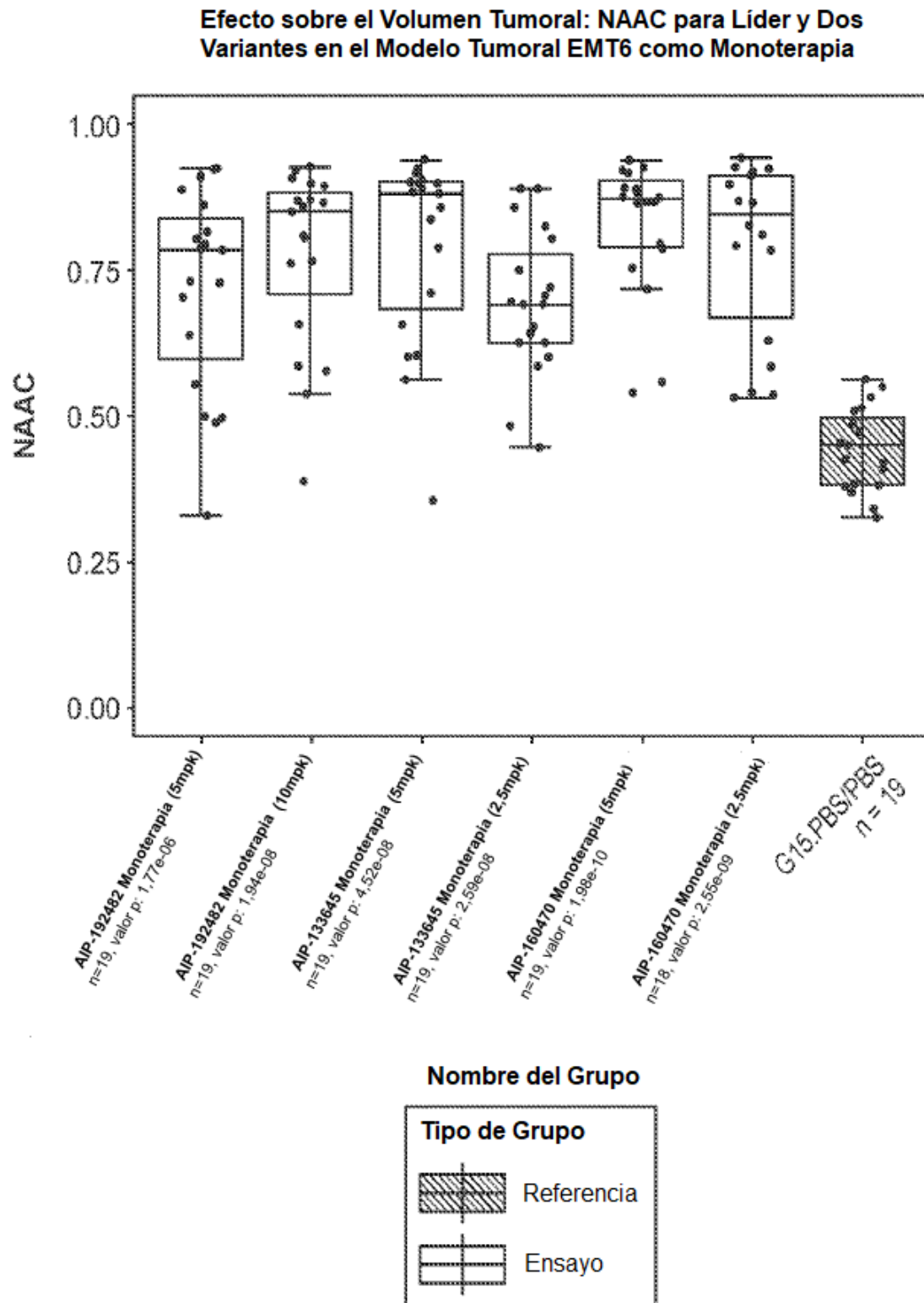


FIG. 12

Anti-PD1 + Líder o Variante. Terapia de Combinación en el Modelo Tumoral EMT6-Crecimiento Tumoral

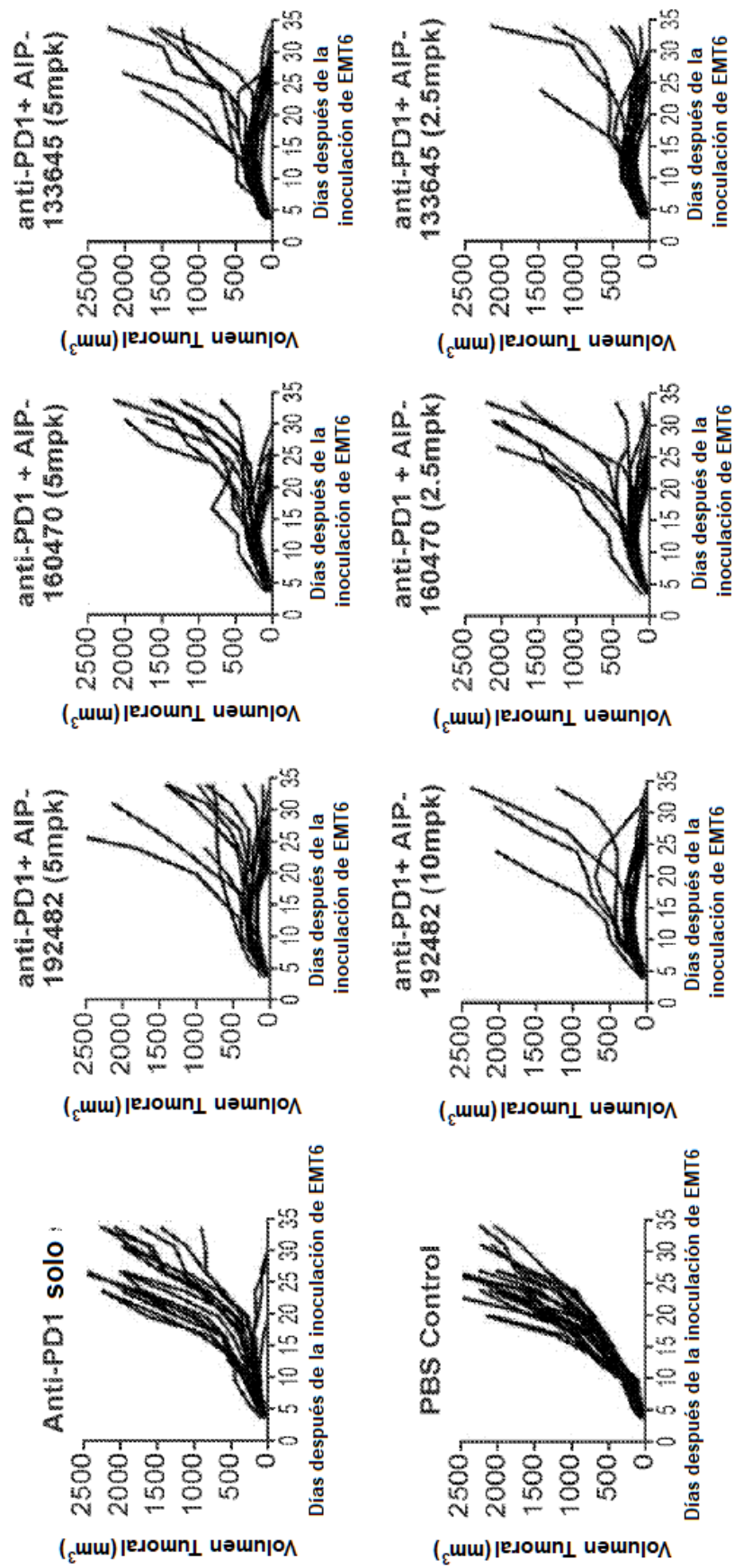


FIG. 13

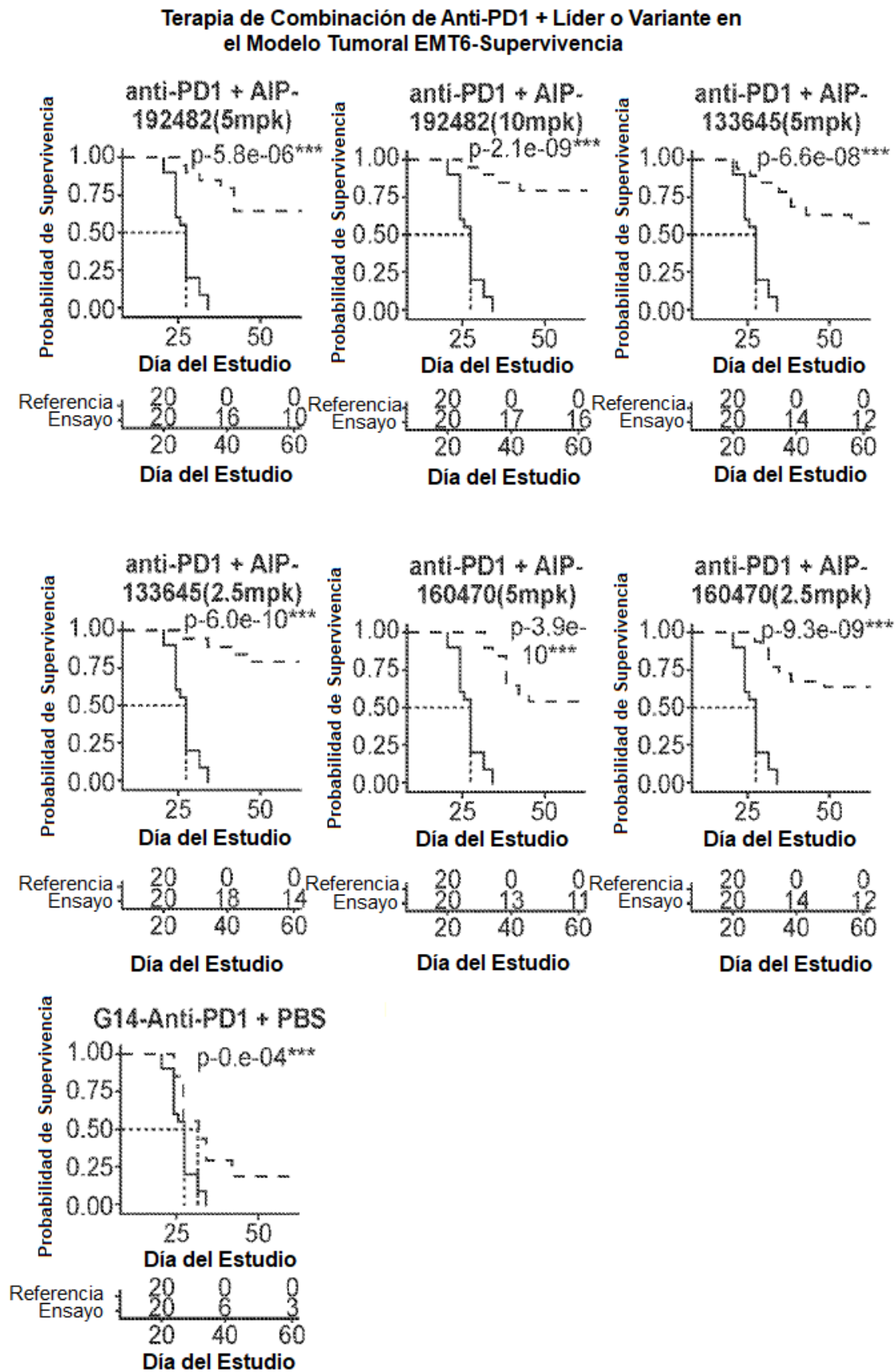


FIG. 14

Efecto sobre el Volumen Tumoral: NAAC para Líder/Variantes en el Modelo Tumoral EMT6 en Combinación con Anticuerpo Anti-PD-1.

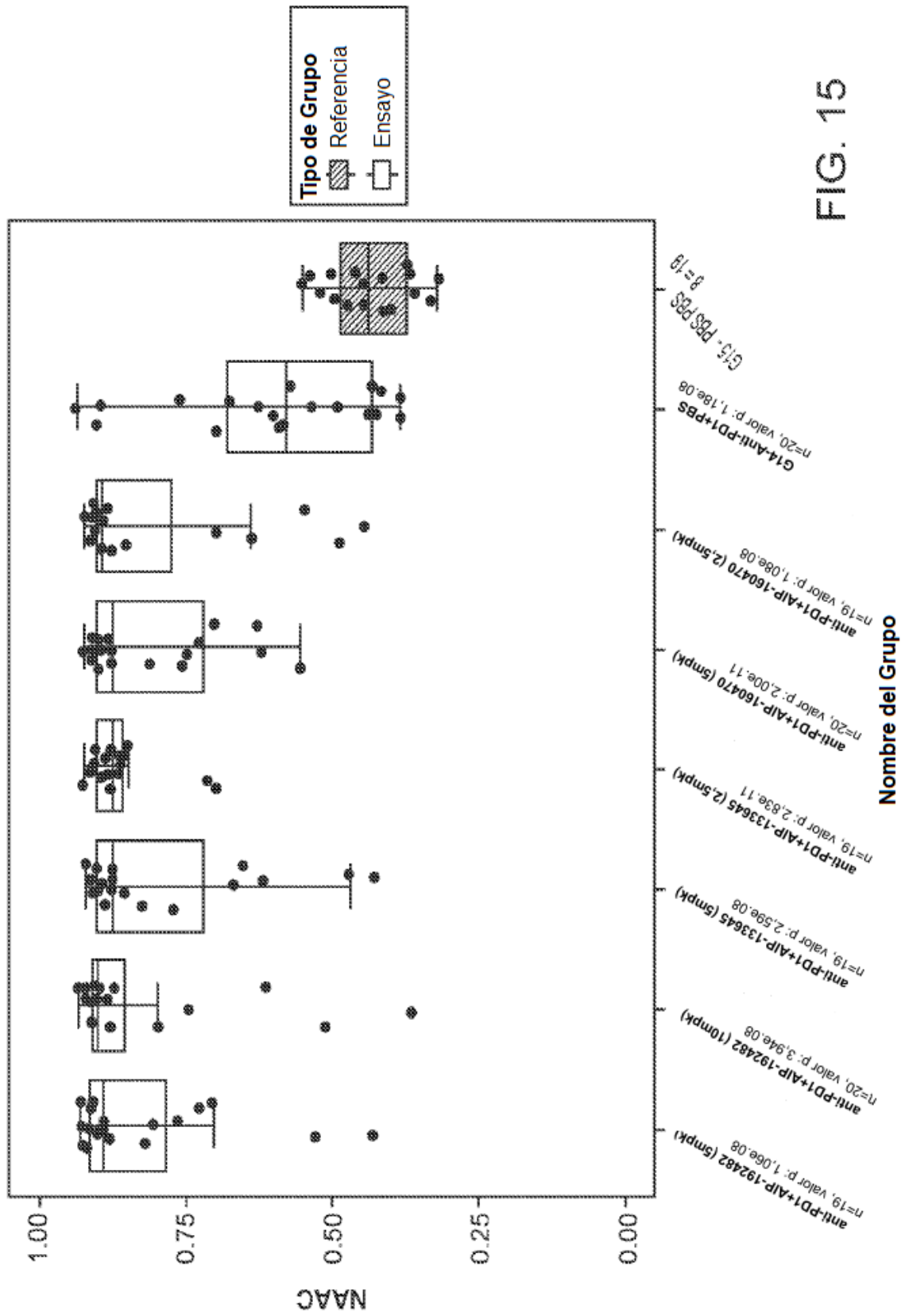


FIG. 15

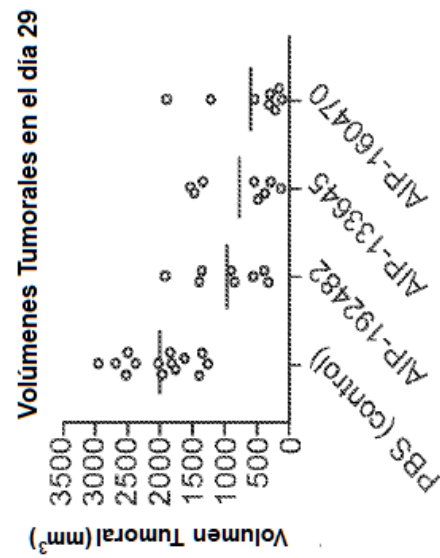
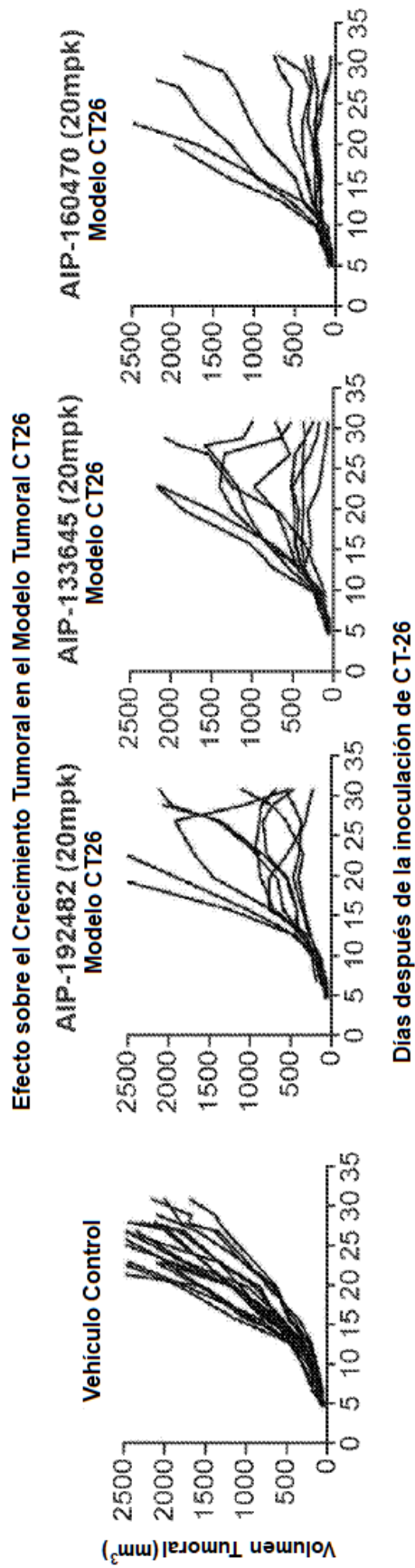


FIG. 16

Efecto en la Supervivencia en el Modelo Tumoral CT26

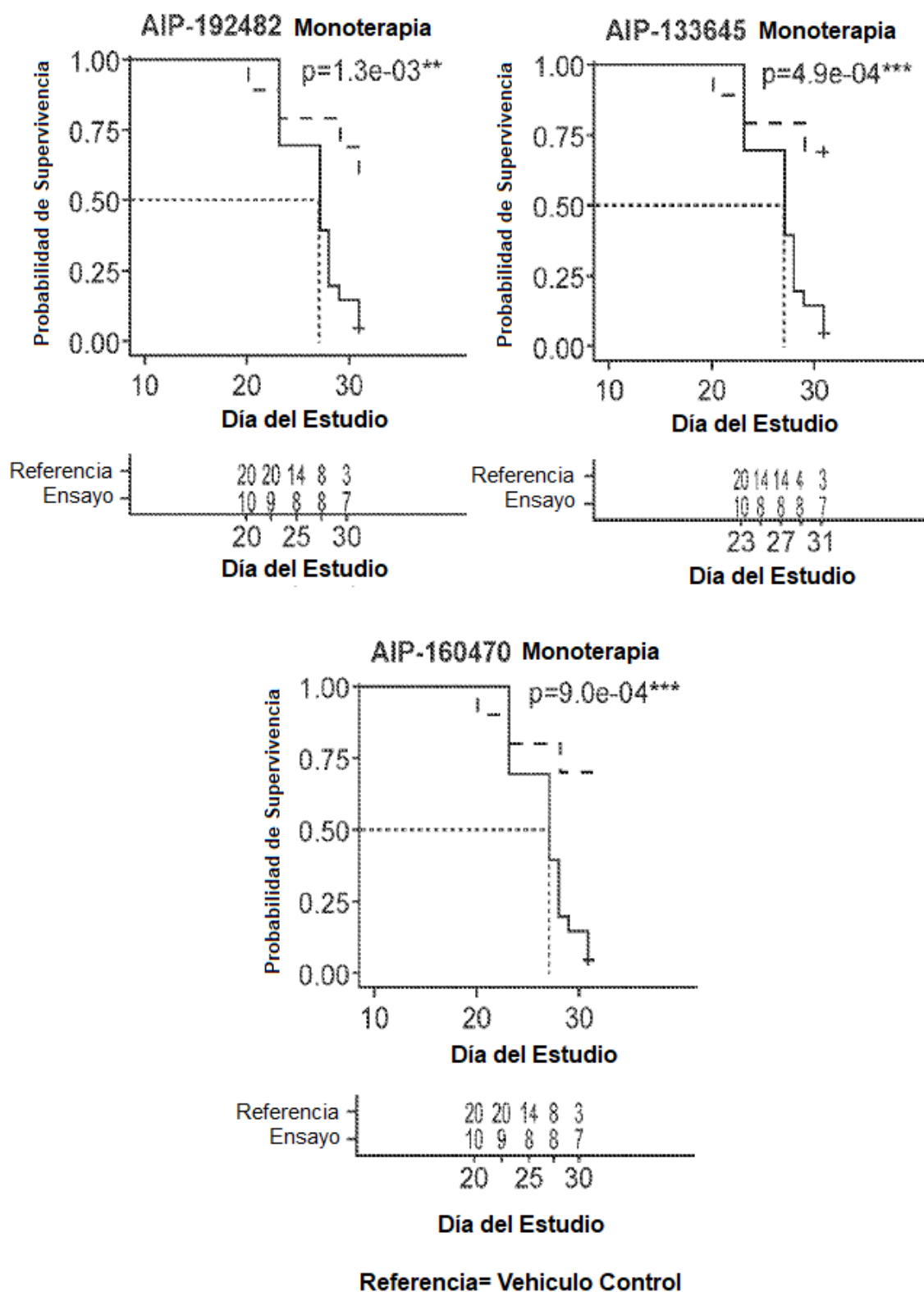


FIG. 17

Efecto sobre el Volumen Tumoral en el Modelo Tumoral CT26

Análisis de NAAC

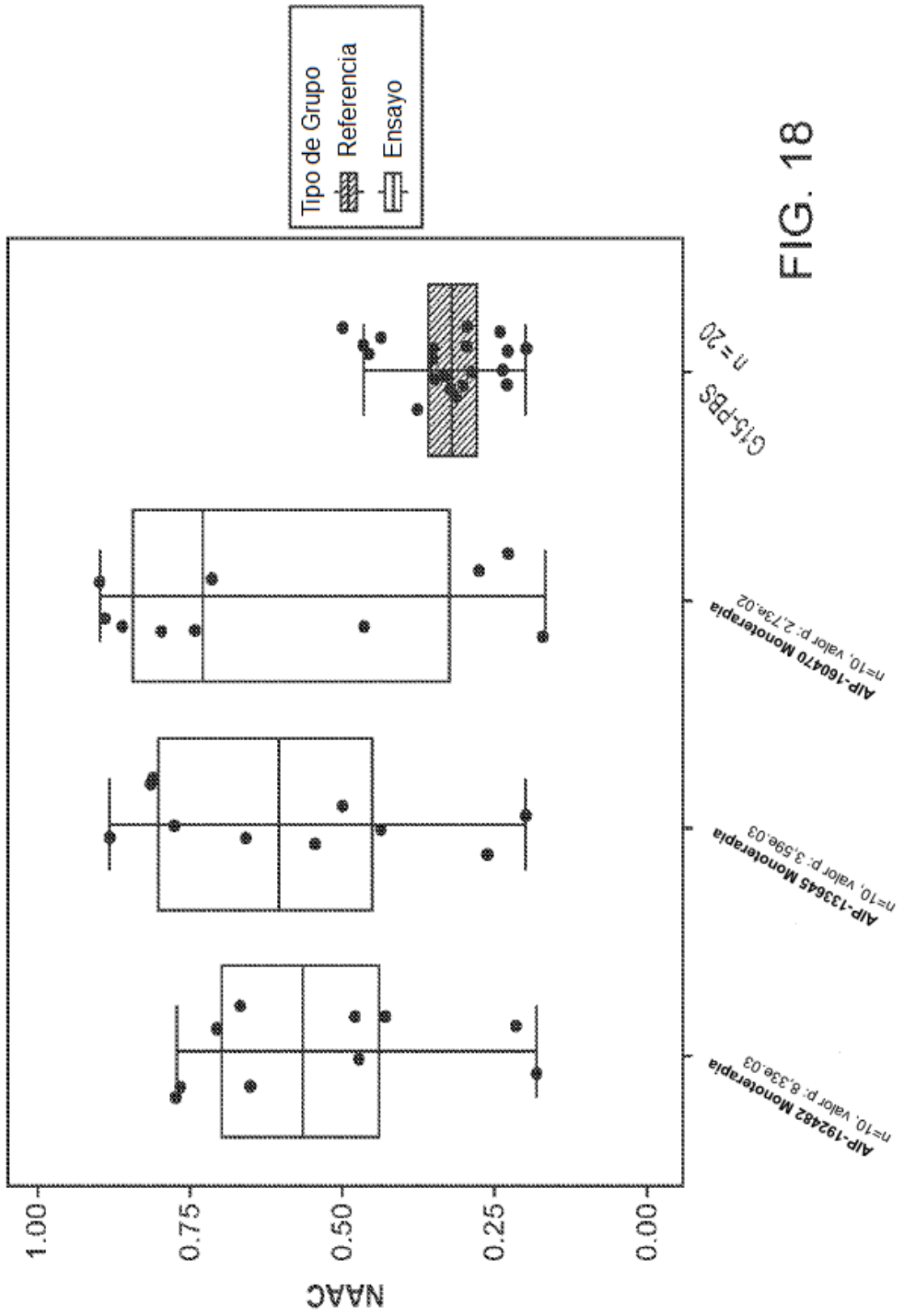
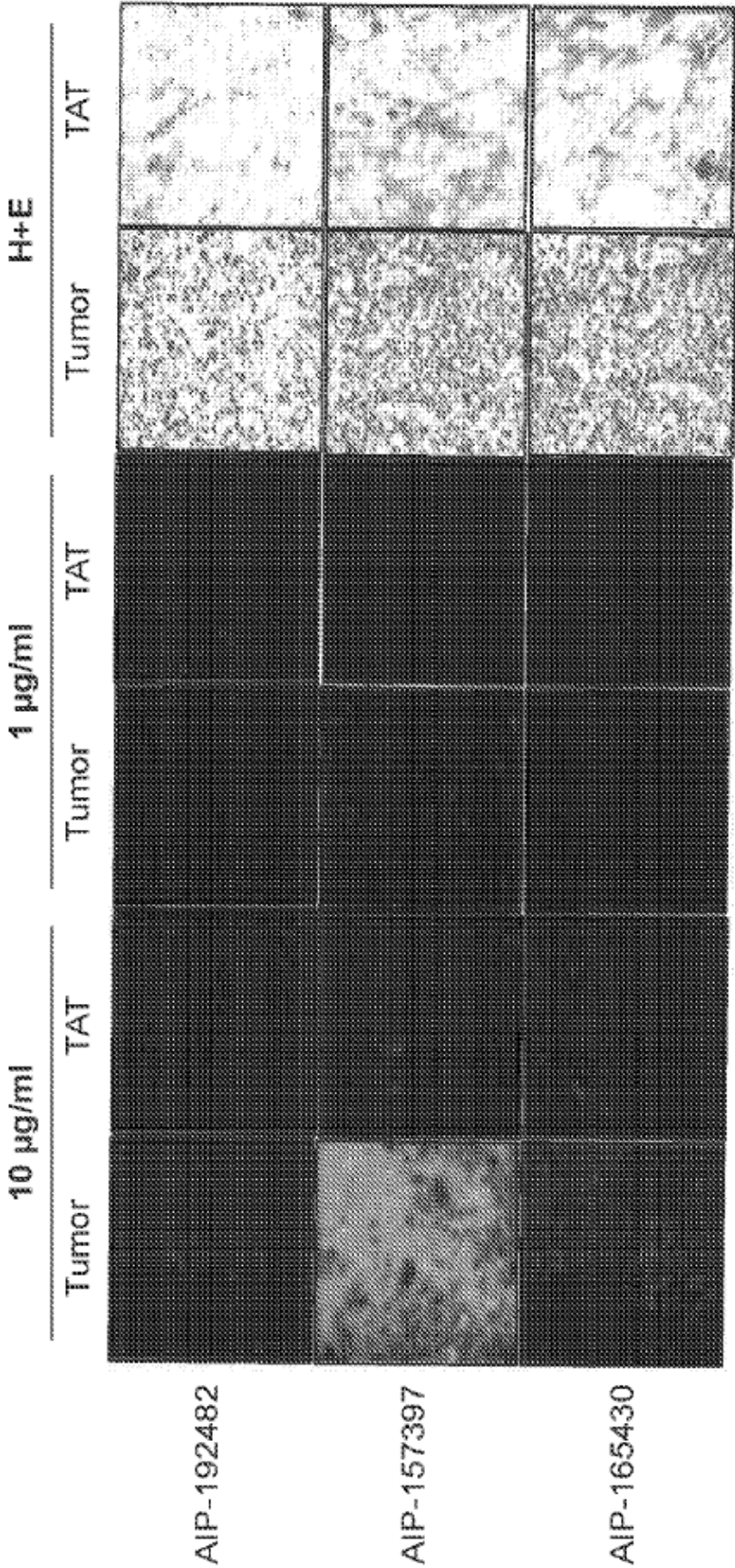


FIG. 18

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumoraes



AIP-157397: aumenta la señal en tumor con señal TAT; sin titulación de señal TAT

AIP-165430: aumenta la señal en tumor con aumento mínimo en TAT

FIG. 19

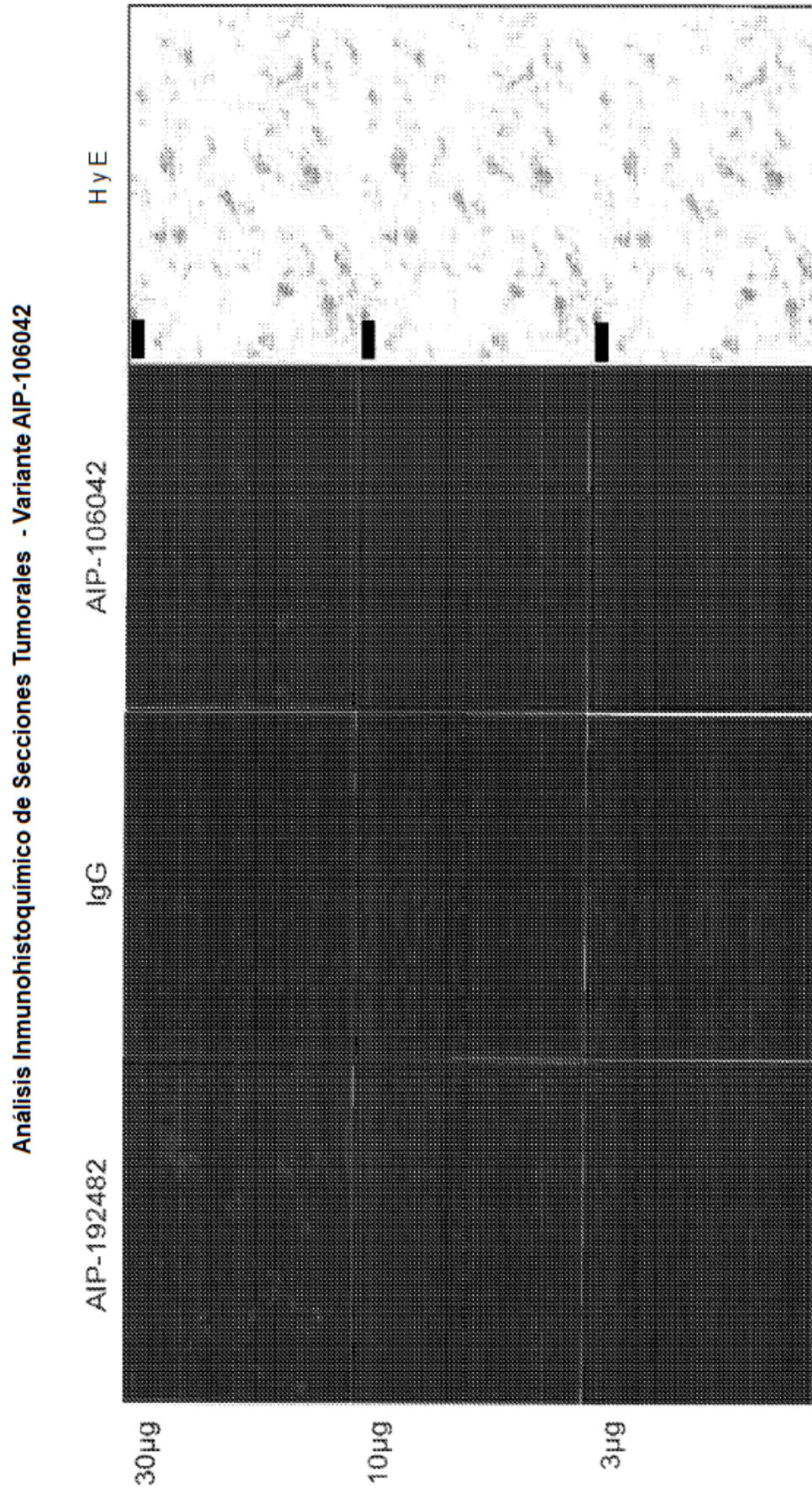


FIG. 20

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumoraes - Variante AIP-100196

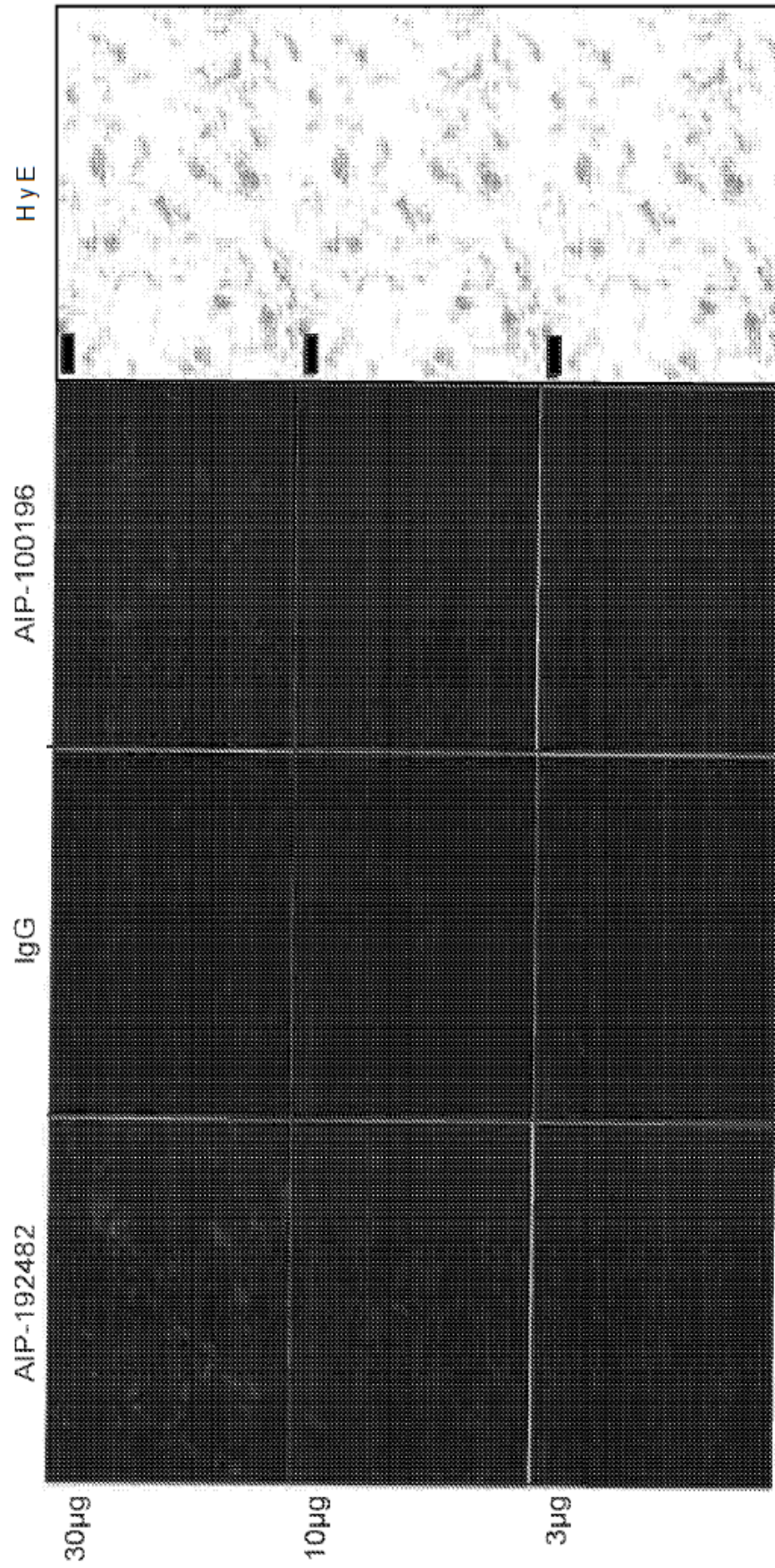


FIG. 21

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumorales con Ab Líder y Variantes

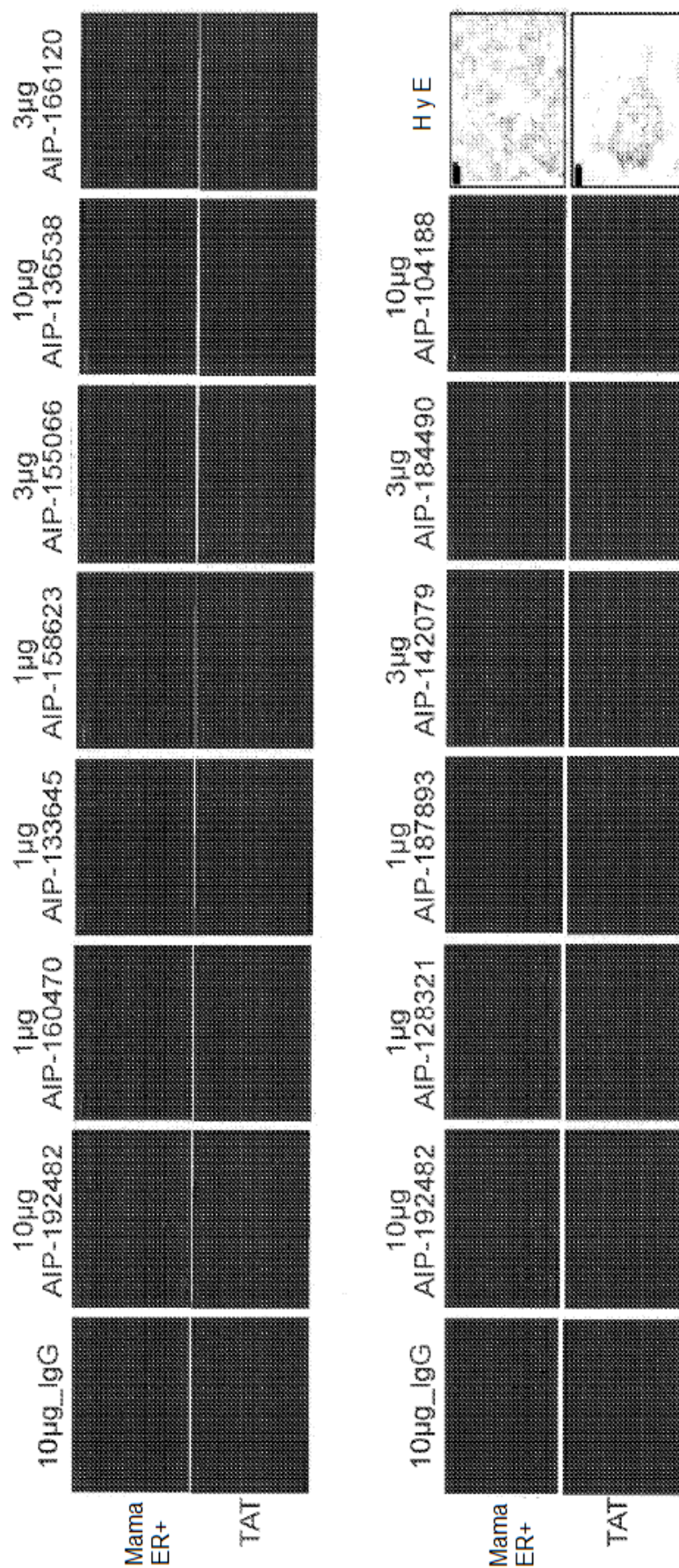


FIG. 22

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumorales con AIP-192482

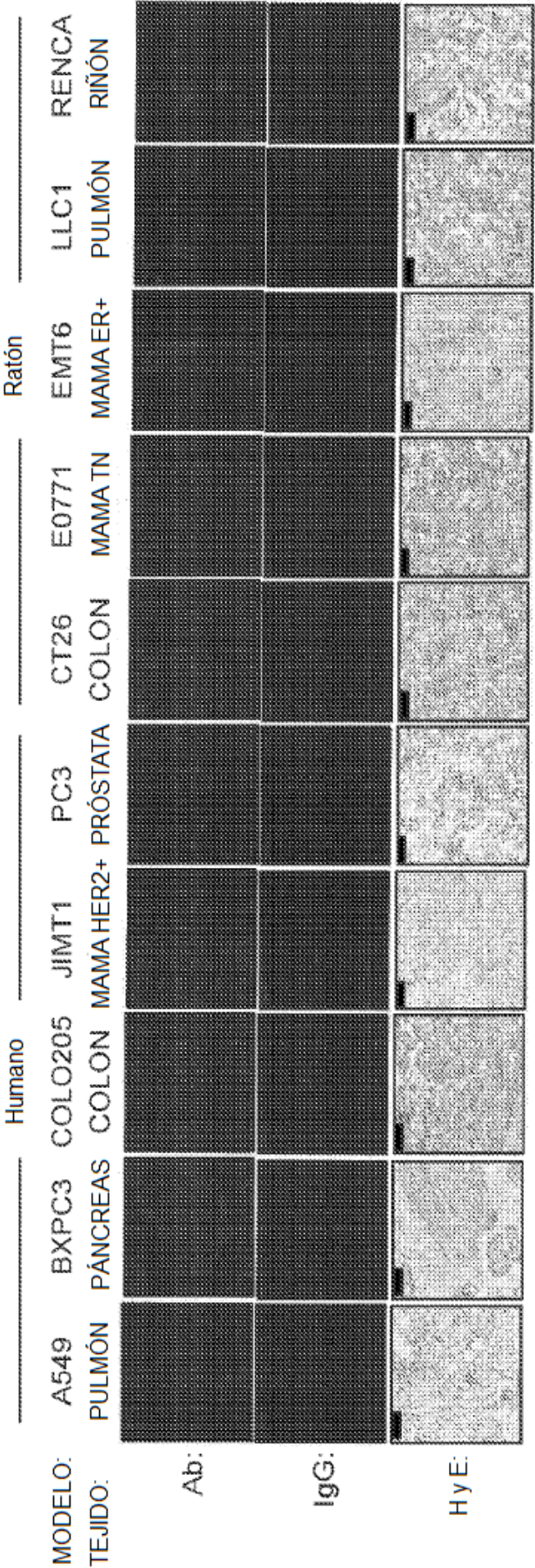


FIG. 23A

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumorales con AIP-133645

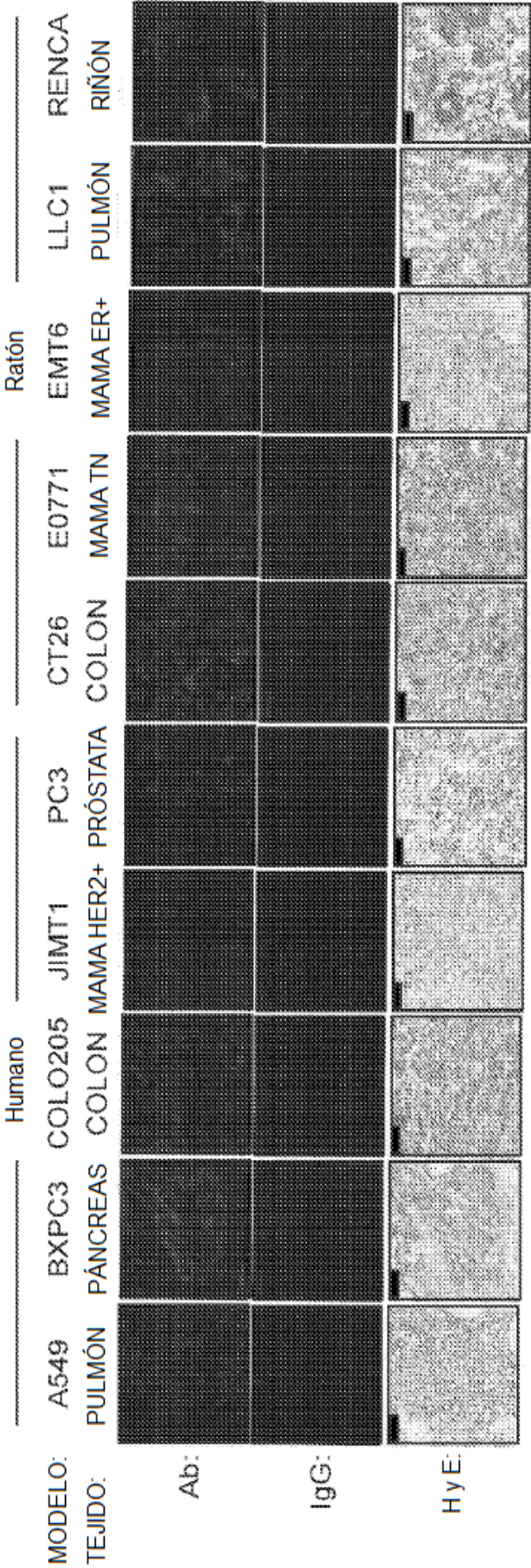


FIG. 23B

Análisis Inmunohistoquímico de Secciones Tumorales con AIP- 160470

	Humano					Ratón				
MODELO:	A549	BXPC3	COLO205	JIMT1	PC3	CT26	E0771	EMT6	LLC1	RENCA
TEJIDO:	PULMÓN	PÁNCREAS	COLÓN	MAMAHER2+	PRÓSTATA	COLÓN	MAMATN	MAMAER+	PULMÓN	RIÑÓN
Ab:										
IgG:										
H y E:										

FIG. 23C

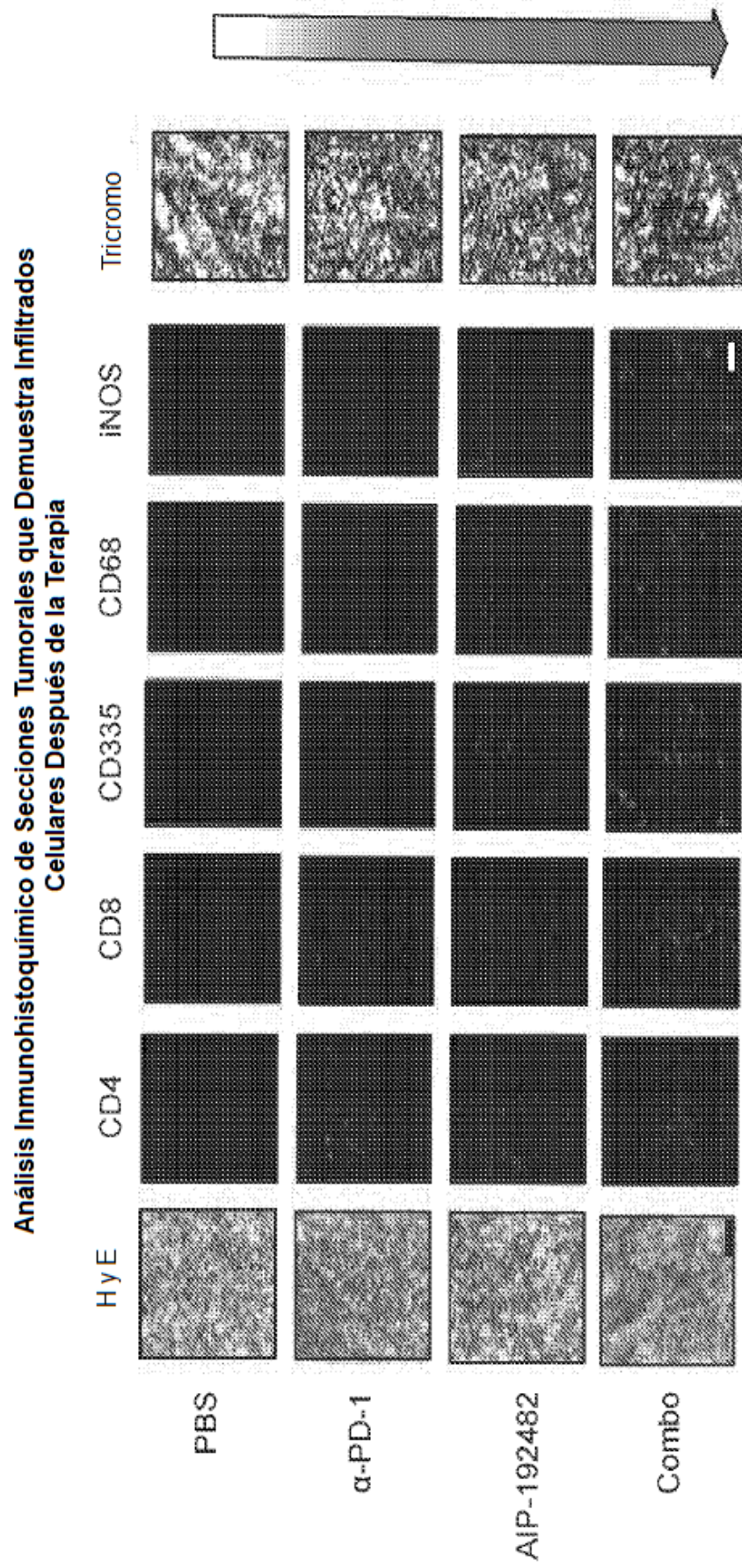


FIG. 24

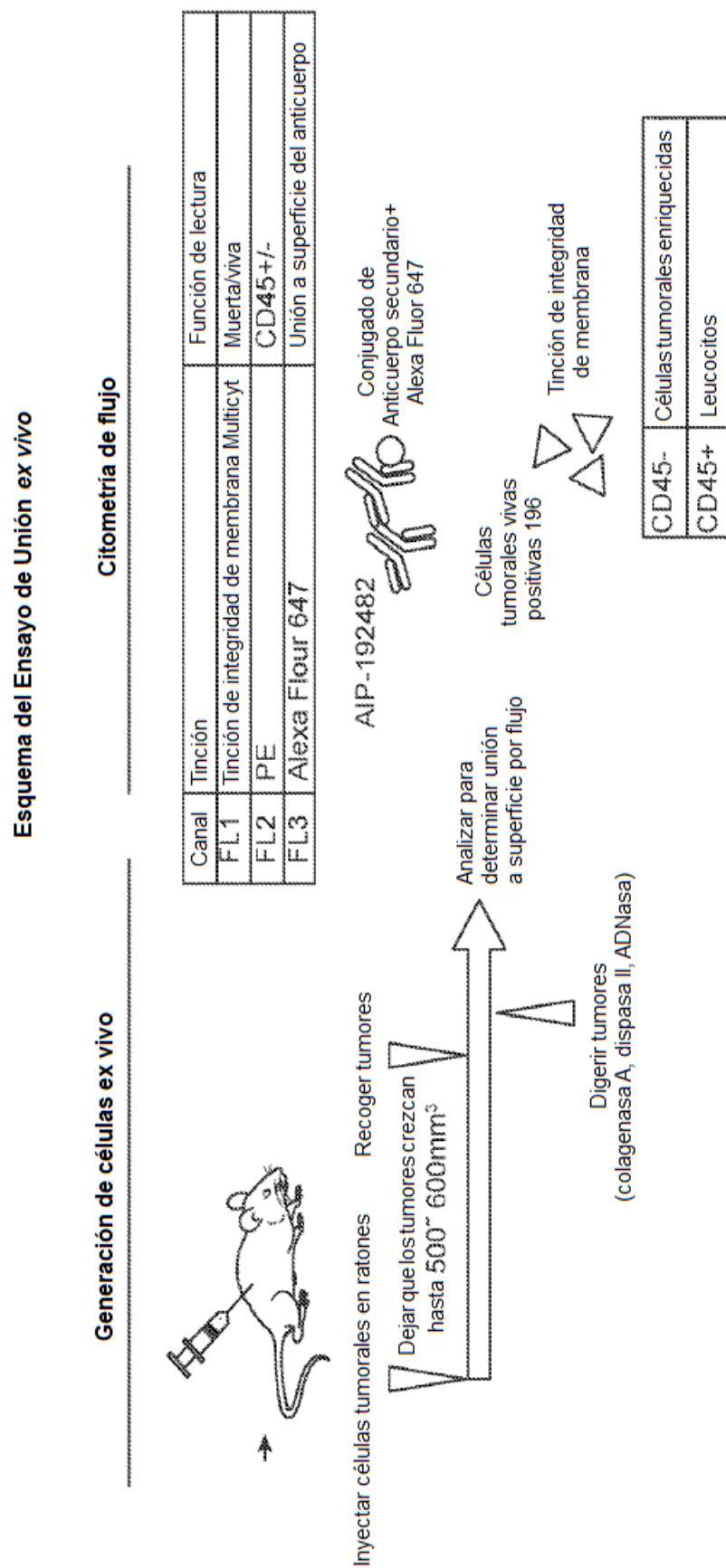


FIG. 25

La Unión de Variantes a Células EMT6 *ex vivo* se Correlaciona con los Datos *in vivo*

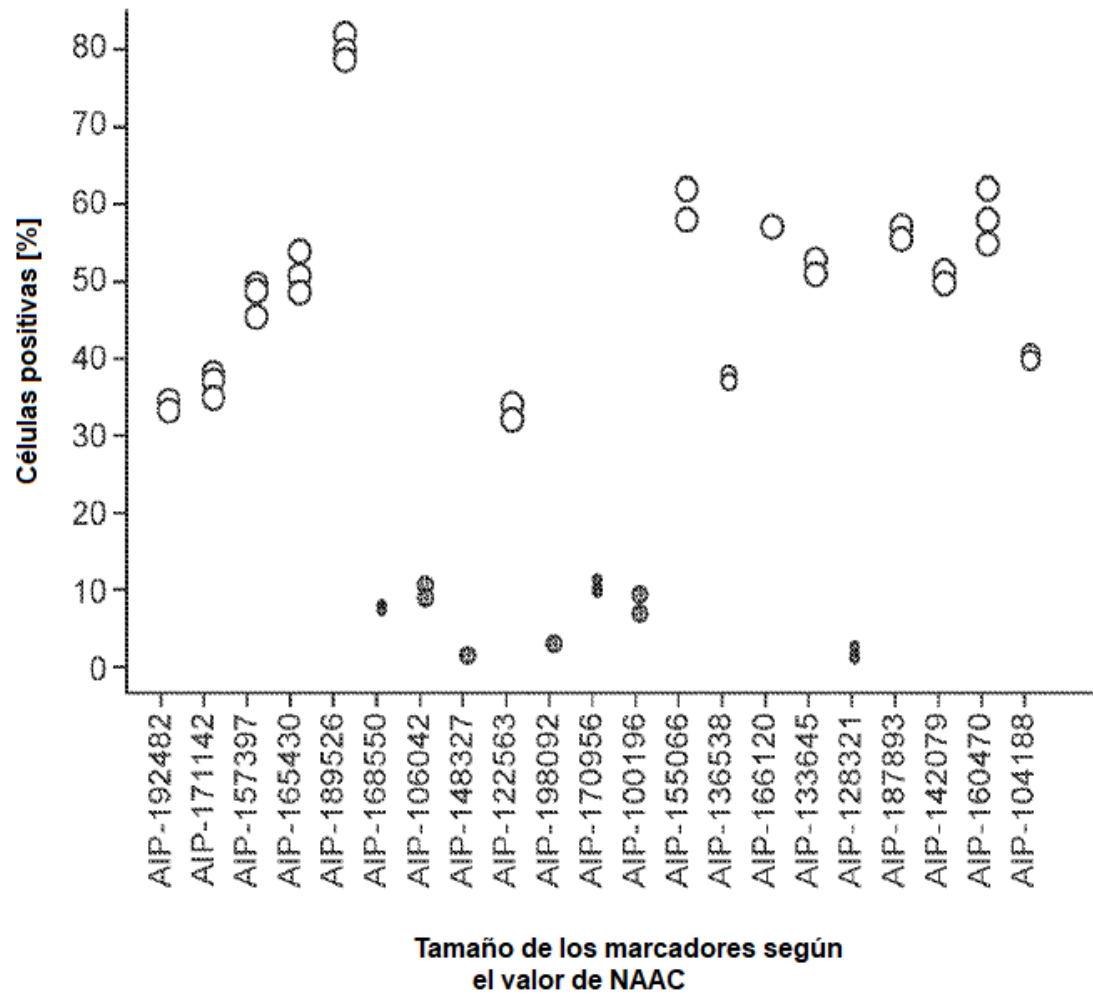


FIG. 26

La Unión de Variantes a Células EMT6 ex vivo se Correlaciona con los Datos *in vivo*

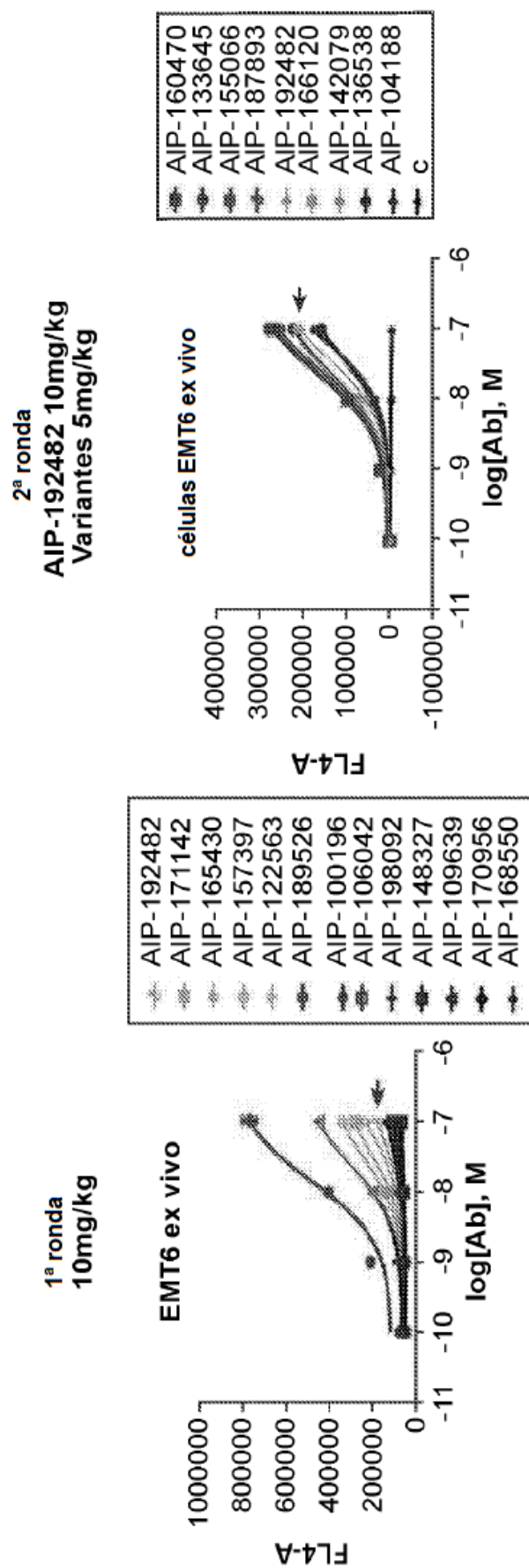


FIG. 27

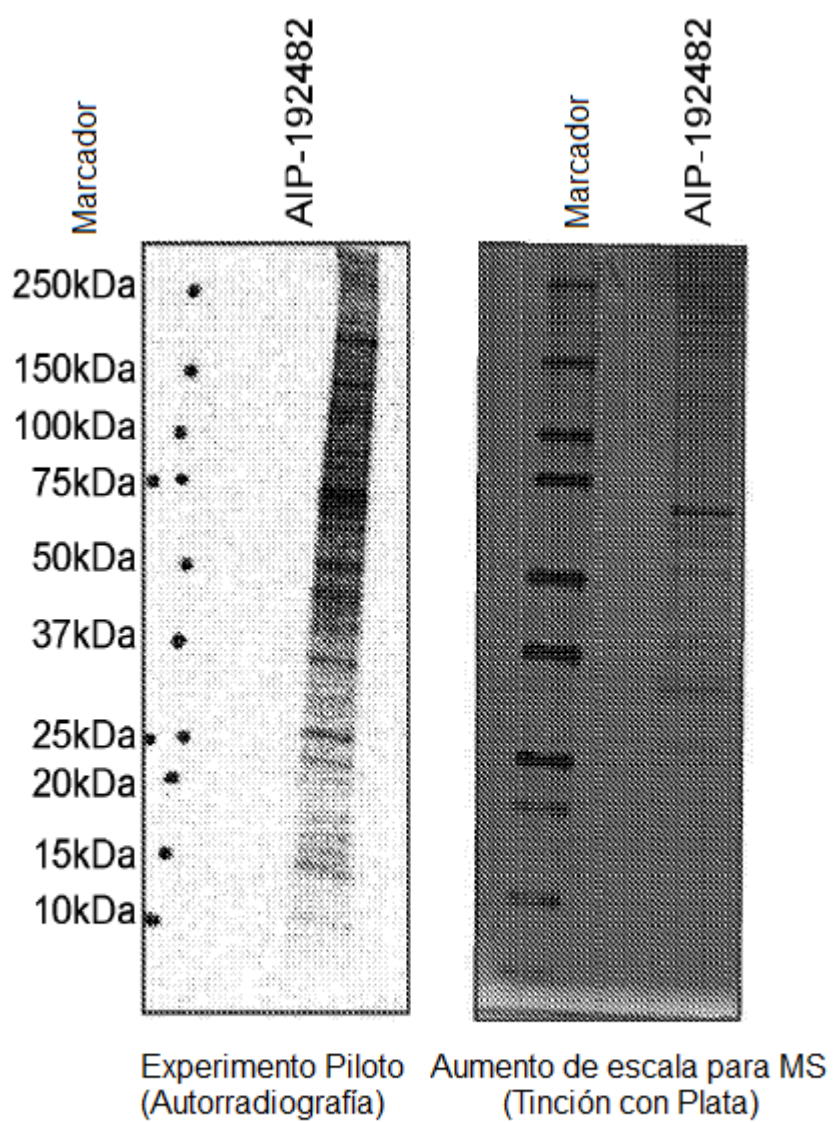


FIG. 28

Tratamiento de Inmunoprecipitados con ARNasa o ADNasa

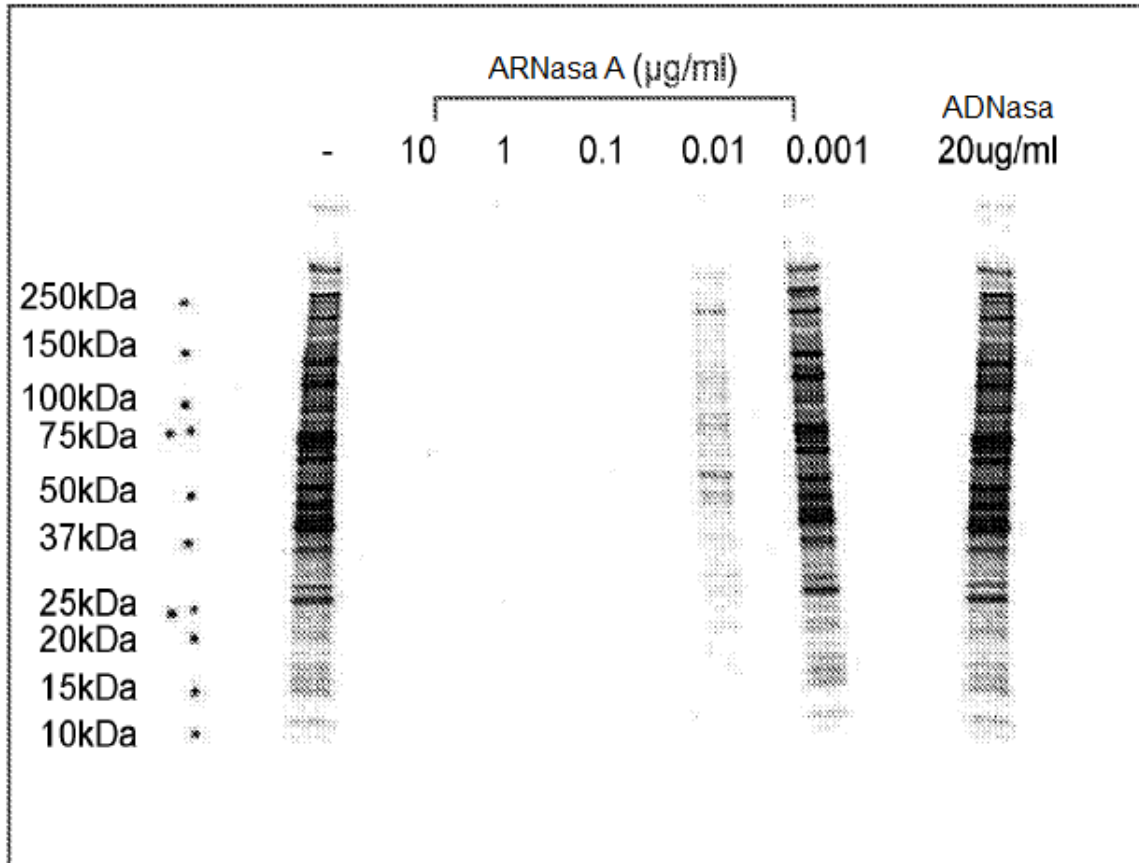


FIG. 29

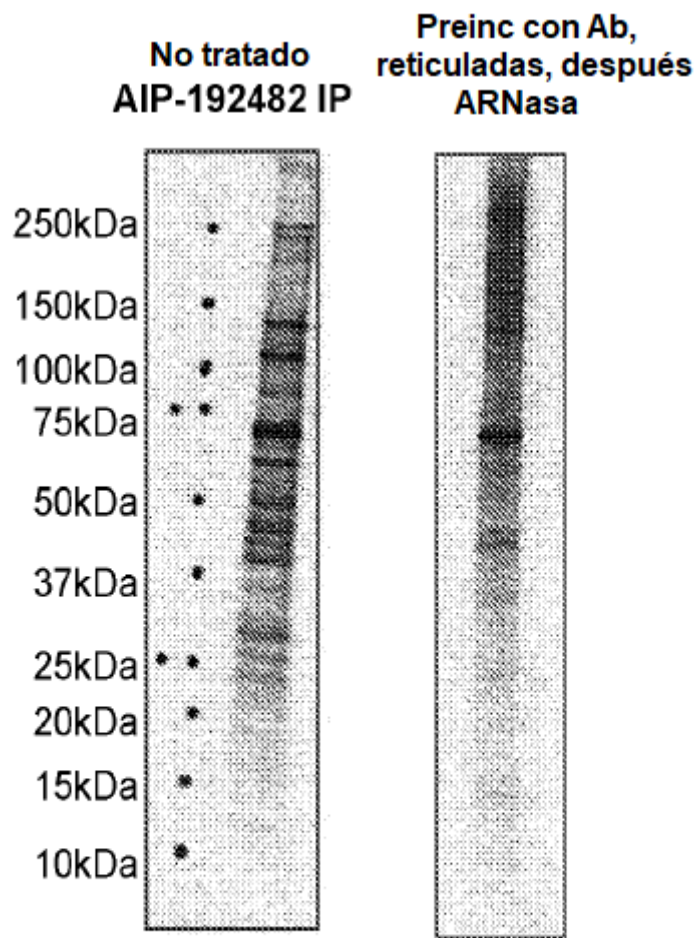


FIG. 30

Purificación por Filtración en Gel de Complejo Ab-Ag +/- ARNasa

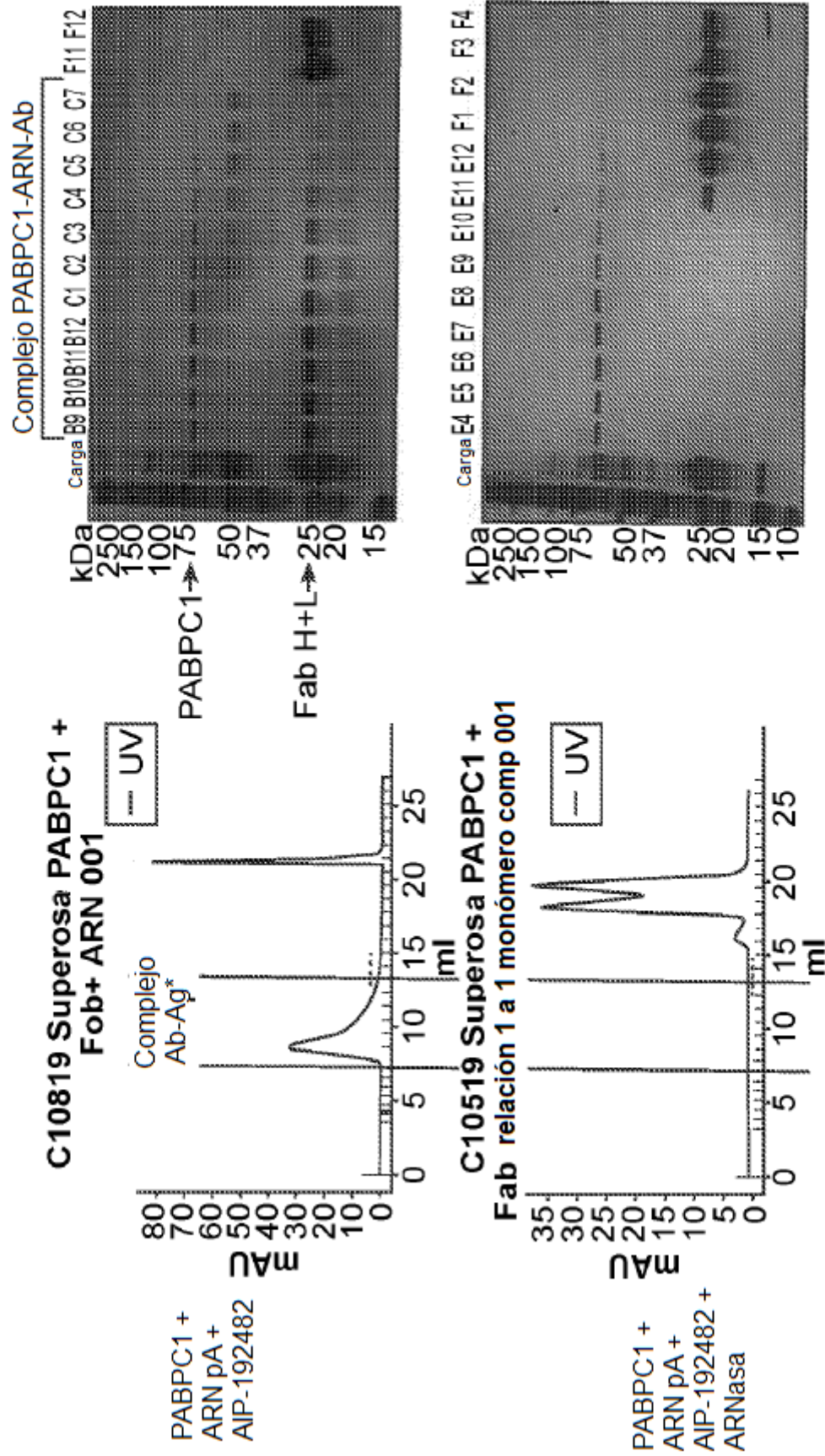


FIG. 31

AIP-192482 se Colocaliza con una Subpoblación de Estructuras Positivas para G3BP en los Tumores EMT6

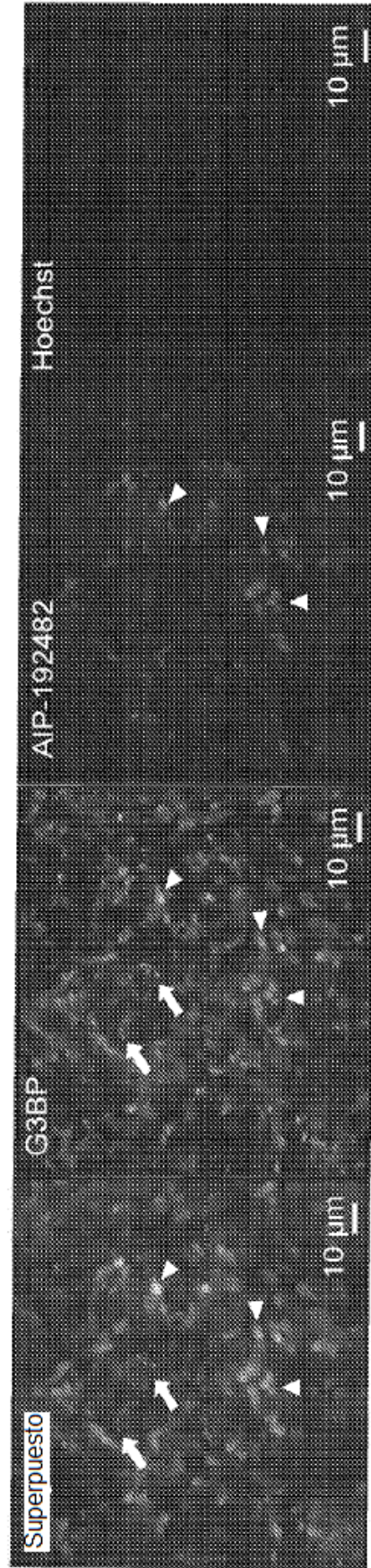


FIG. 32A

FIG. 32B

FIG. 32C

FIG. 32D

Codistribución de Inmunorreactividades de AIP-160470 y CD9 en el Tumor EMT6

CD9/ AIP-160470/ HOECHST

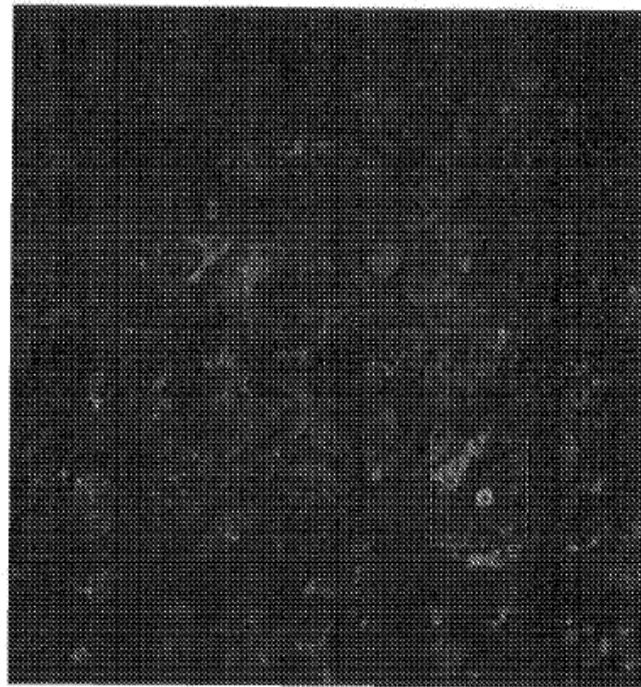


FIG. 33A

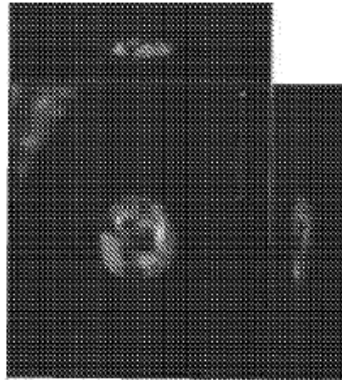


FIG. 33B

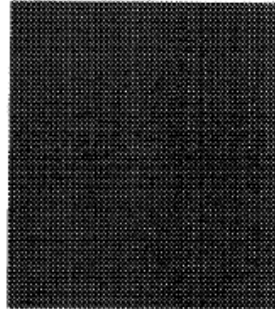


FIG. 33C

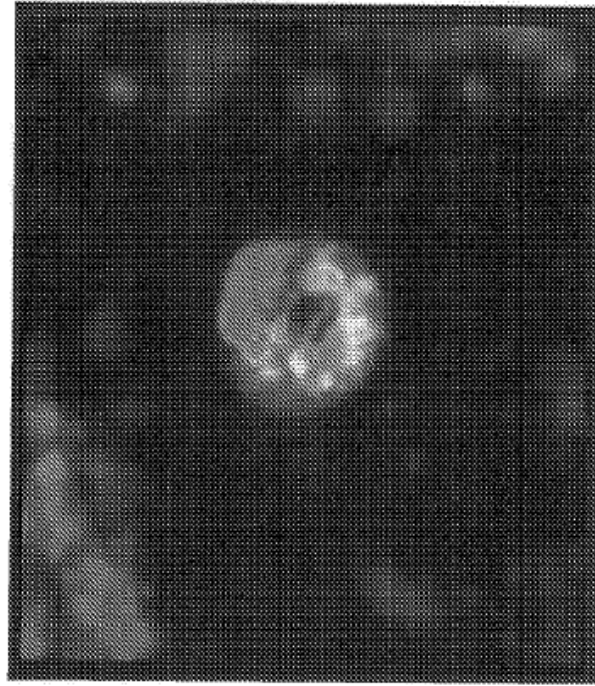


FIG. 33D

Codistribución de Inmunorreactividades de AIP-160470 y CD9 en Carcinoma de Mama Humano

CD9/ AIP-160470/ HOECHST

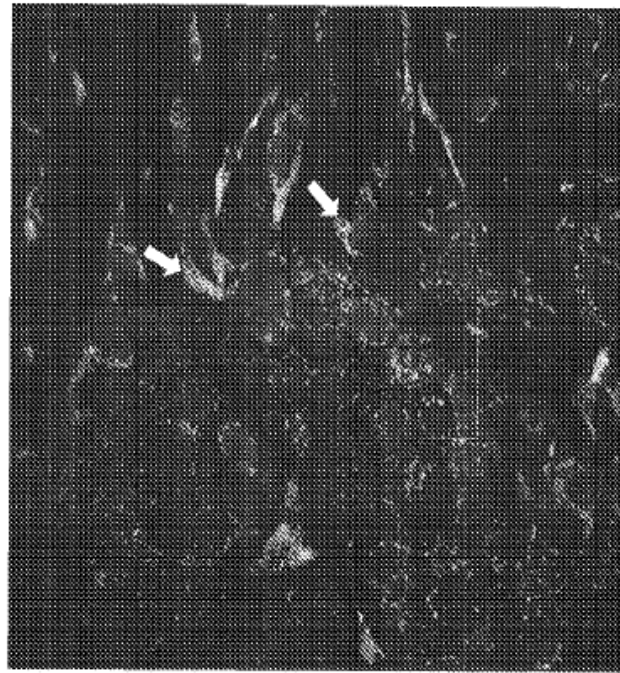


FIG. 34A

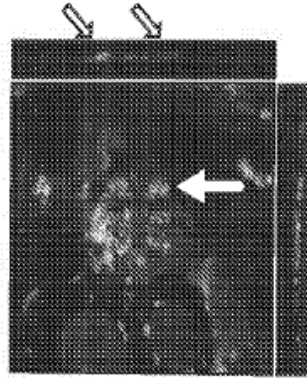


FIG. 34B

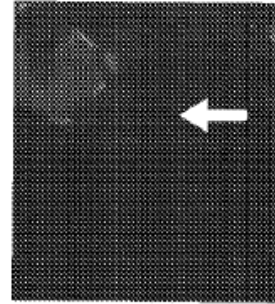


FIG. 34C

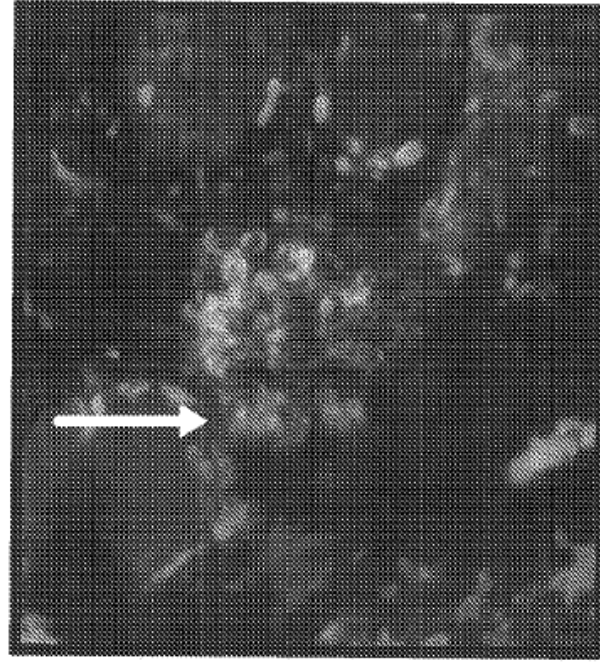


FIG. 34D

La Doxorubicina (DOX) Aumenta la Unión a la Superficie Celular de AIP-192482 y AIP-160470 en Células EMT6 *in vitro*

Citometría de flujo

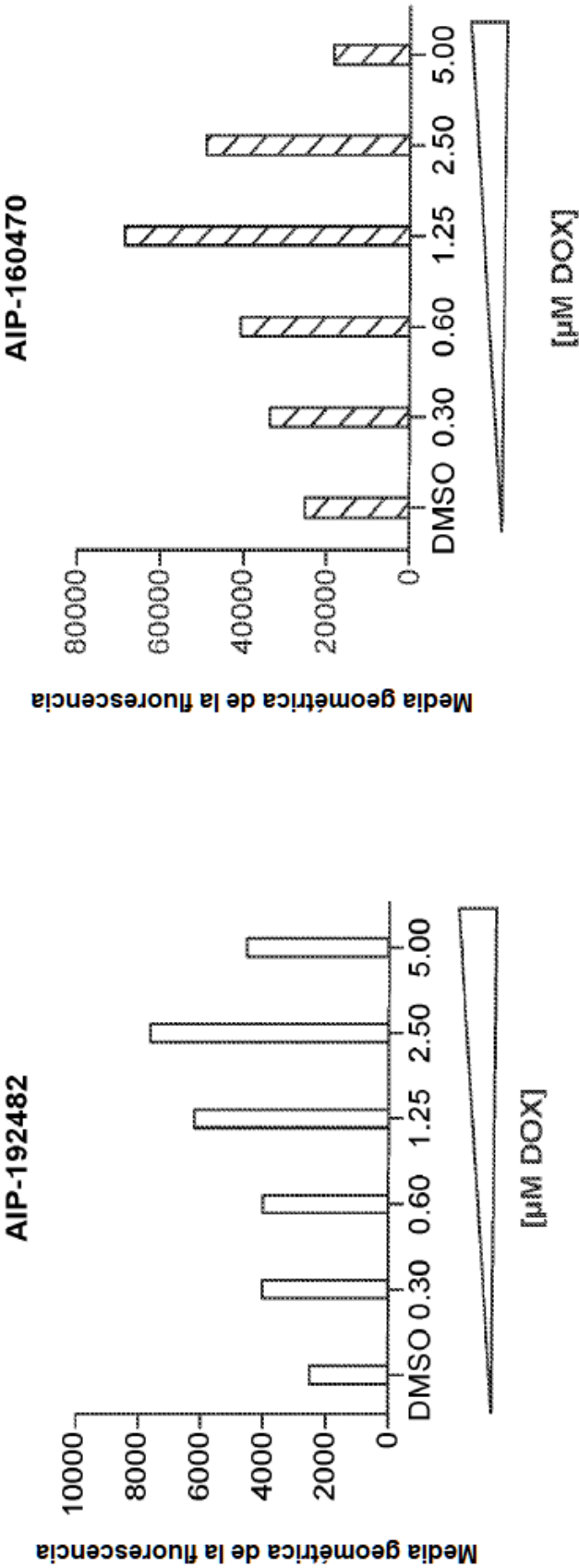


FIG. 35A

FIG. 35B

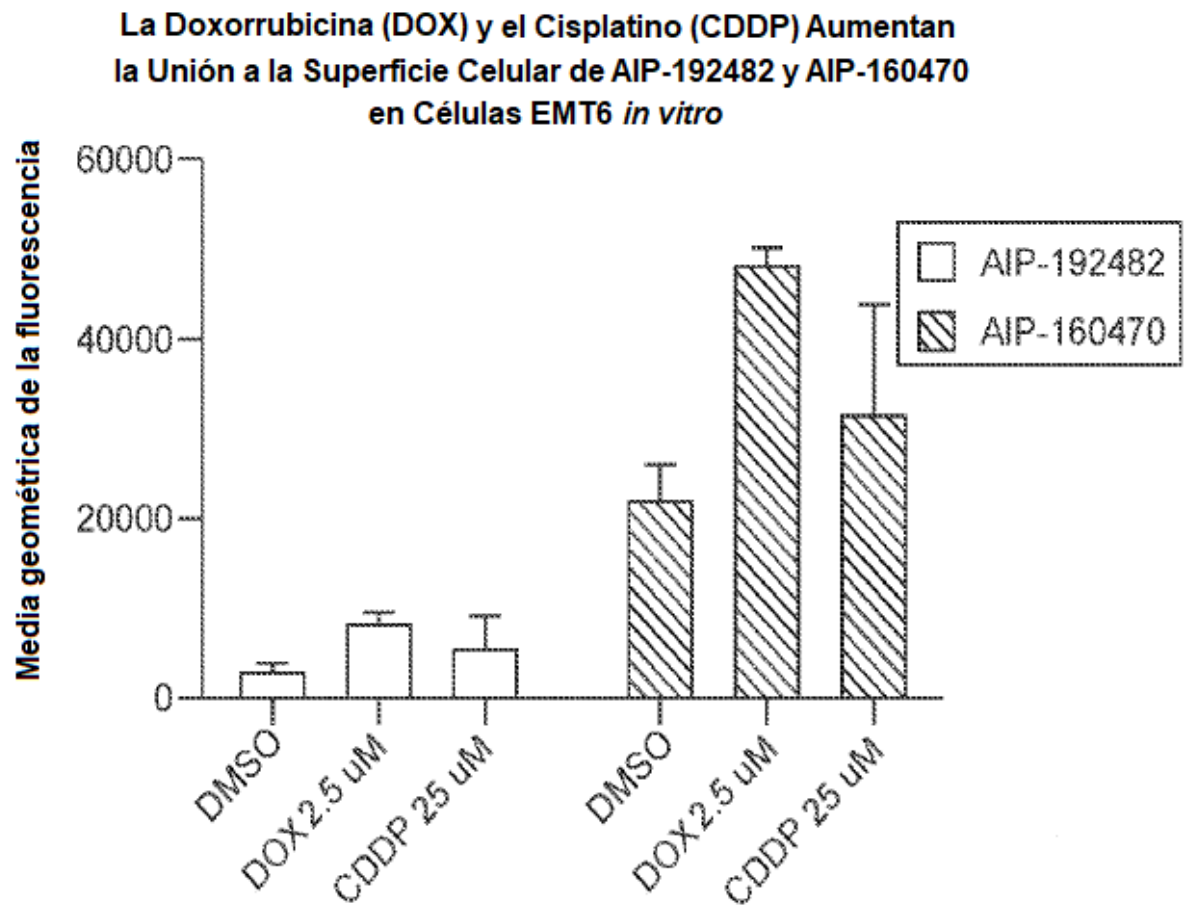


FIG. 36

Numeración de Kabat Chothia IMGT de V_H de AIP-160470

Kabat:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Chothia:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
IMGT:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
AIP-160470	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	A	L	V	K	P	G	G	S	L	R	L

Kabat:	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Chothia:	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
IMGT:	22	23	24	25	26	27	28	29	30	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
AIP-160470	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	K	A	W	M	S	W	V	R	Q	A

Kabat:	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52a	52b	52c	53	54	55	56	57
Chothia:	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52a	52b	52c	53	54	55	56	57
IMGT:	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
AIP-160470	P	G	K	G	L	E	W	V	G	R	I	K	S	V	T	D	G	E	T	T

Kabat:	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77
Chothia:	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77
IMGT:	66	67	68	69	70	71	72	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86
AIP-160470	D	Y	A	A	P	V	K	G	R	F	T	I	S	R	D	D	S	K	S	T

Kabat:	78	79	80	81	82	82a	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
Chothia:	78	79	80	81	82	82a	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
IMGT:	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106
AIP-160470	L	Y	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	S

FIG. 37A

Kabat:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j
Choithia:	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	100e	100f	100g	100h	100i	100j
IMGT:	107	108	109	110	111	111.1	111.2	111.3	111.4	111.5	111.6	111.7	111.8	111.9	112.9	112.8
AIP-160470	S	F	C	C	R	G	G	S	C	P	S	H	D	T	S	Y

Kabat:	100k	100l	100m	100n	100o	100p	100q	100r	100s	100t	100u	101	102	103	104	105
Choithia:	100k	100l	100m	100n	100o	100p	100q	100r	100s	100t	100u	101	102	103	104	105
IMGT:	112.7	112.6	112.5	112.4	112.3	112.2	112.1	112	113	114	115	116	117	118	119	120
AIP-160470	C	G	G	Q	Y	K	S	Y	Y	Y	M	D	V	W	G	K

Kabat:	106	107	108	109	110	111	112	113
Choithia:	106	107	108	109	110	111	112	113
IMGT:	121	122	123	124	125	126	127	128
AIP-160470	G	T	T	V	T	V	S	S

FIG. 37A (Cont.)

Numeración de Kabat Chothia IMGT de V_L de AIP-160470

Kabat:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Chothia:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
IMGT:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
AIP-160470	Q	S	V	L	T	Q	P	P	S	A	S	G	T	P	G	Q	R	V	T	I

Kabat:	22	23	24	25	26	27	27a	27b	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
Chothia:	22	23	24	25	26	27	28	29	30	30a	30b	31	32	33	34	35	36	37	38	39
IMGT:	22	23	24	25	26	27	28	29	30	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
AIP-160470	S	C	S	G	S	S	S	N	I	G	S	S	S	V	S	W	Y	Q	Q	L

Kabat:	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
Chothia:	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
IMGT:	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	65	66	67	68	69	70	71	72
AIP-160470	P	G	T	A	P	K	L	L	I	Y	K	N	N	Q	R	P	S	G	V	P

Kabat:	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
Chothia:	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
IMGT:	74	75	76	77	78	79	80	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
AIP-160470	D	R	F	S	G	S	K	S	G	T	S	A	S	L	A	I	S	G	L	R

FIG. 37B

Kabat:	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
Choithia:	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
IMGT:	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	113	114	115	116	117
AIP-160470	S	E	D	E	A	D	Y	Y	C	S	T	W	D	D	S	L	S	V	R	V

Kabat:	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
Choithia:	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
IMGT:	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127
AIP-160470	F	G	G	G	T	K	L	T	V	L

FIG. 37B (Cont.)

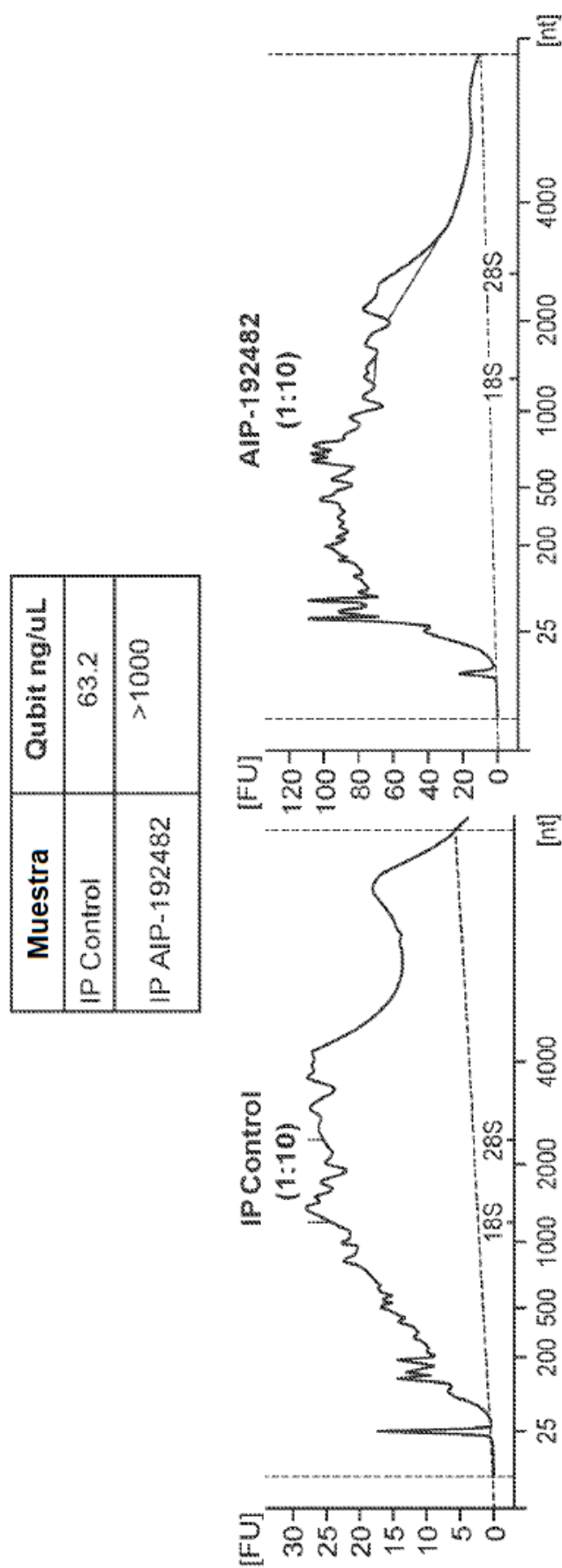


FIG. 38A

Gen	Ab Control Rd 1	Ab Control Rd 2	AIP-192482 Exp 1	AIP-192482 Exp 2
CCDC125	0.00E+00	0.00E+00	2.53E-06	0.00E+00
PARP15	0.00E+00	0.00E+00	3.80E-06	0.00E+00
AC007620.3	0.00E+00	0.00E+00	1.27E-06	0.00E+00
TMEM182	0.00E+00	0.00E+00	5.06E-06	0.00E+00
F11R	0.00E+00	0.00E+00	1.27E-05	5.64E-05
SLC38A6	0.00E+00	0.00E+00	1.27E-06	0.00E+00
RPAIN	0.00E+00	0.00E+00	1.01E-05	2.82E-05
CTC-260E6.6	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	2.82E-05
KTN1-AS1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
MAB21L3	0.00E+00	0.00E+00	8.86E-06	0.00E+00

FIG. 38B

Rango de CE₅₀ (Expresado como veces sobre AIP-160470)
 0 = >500 nM; 1 = <0.5; 2 = 0.5 a 2; 3 = 2 a 4; 4 = >4

Rango de ΔActividad (en relación a AIP-160470)
 0 = <0.12; 1 = 0.12 a 0.3; 2 = 0.3 a 0.75; 3 = > 0.75

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-109729	1	13	4.0	0.57	2.0
AIP-128136	3	1	4.0	1.21	3.0
AIP-131972	1	2	4.0	0.79	3.0
AIP-153125	3	2	4.0	0.99	3.0
AIP-157045	2	21	4.0	1.21	3.0
AIP-160829	2	17	4.0	1.04	3.0
AIP-181273	3	9	4.0	1.12	3.0
AIP-189526	2	12	4.0	0.98	3.0
AIP-125062	2	21	3.5	1.03	3.0
AIP-125258	2	31	3.5	0.91	3.0
AIP-150199	2	26	3.5	1.00	3.0
AIP-166722	2	29	3.5	0.49	2.0
AIP-170105	2	28	3.5	0.88	3.0
AIP-180422	2	32	3.5	0.63	2.0
AIP-180675	2	17	3.5	0.78	2.5
AIP-184744	2	24	3.5	0.84	2.5
AIP-102624	1	50	3.0	0.47	2.0
AIP-115363	1	29	3.0	0.90	3.0
AIP-128147	2	32	3.0	0.84	2.5
AIP-154181	2	46	3.0	0.69	2.0
AIP-157078	1	51	3.0	0.67	2.0
AIP-174676	1	40	3.0	0.33	2.0
AIP-101601	2	42	2.5	0.67	2.5
AIP-109048	2	40	2.5	0.74	2.5
AIP-111240	2	50	2.5	0.89	3.0
AIP-114403	2	46	2.5	0.83	2.5
AIP-127782	2	76	2.5	1.05	3.0
AIP-129145	2	39	2.5	0.63	2.0
AIP-136060	2	51	2.5	0.85	2.5
AIP-148062	2	47	2.5	0.79	3.0
AIP-162041	2	47	2.5	0.84	3.0
AIP-167533	2	52	2.5	0.55	2.0
AIP-190051	2	43	2.5	0.79	3.0
AIP-100340	1	152	2.0	0.31	2.0
AIP-101235	2	51	2.0	0.95	3.0
AIP-102299	2	93	2.0	0.63	2.0
AIP-104086	2	104	2.0	0.87	3.0

FIG. 39

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-104364	1	148	2.0	0.22	1.0
AIP-105241	1	86	2.0	0.43	2.0
AIP-106633	2	95	2.0	0.67	2.0
AIP-107759	2	111	2.0	0.68	2.0
AIP-109343	2	53	2.0	0.80	2.5
AIP-109484	1	134	2.0	0.59	2.0
AIP-109510	1	79	2.0	0.63	2.0
AIP-110143	1	111	2.0	0.83	3.0
AIP-112328	1	174	2.0	0.65	2.0
AIP-112580	2	84	2.0	0.77	2.5
AIP-113513	1	169	2.0	0.59	2.0
AIP-114196	1	102	2.0	0.64	2.0
AIP-116142	1	172	2.0	0.60	2.0
AIP-116579	3	143	2.0	0.64	2.0
AIP-119622	2	94	2.0	0.77	2.5
AIP-119664	2	96	2.0	0.71	2.5
AIP-124314	3	161	2.0	0.91	2.7
AIP-125984	2	80	2.0	0.72	2.5
AIP-126285	2	71	2.0	0.77	2.5
AIP-127108	1	68	2.0	0.49	2.0
AIP-128195	3	138	2.0	0.52	2.0
AIP-128243	1	111	2.0	0.70	2.0
AIP-130491	1	107	2.0	0.75	3.0
AIP-130915	2	60	2.0	0.84	2.5
AIP-133650	1	119	2.0	0.58	2.0
AIP-134312	1	179	2.0	0.78	3.0
AIP-134770	3	90	2.0	0.88	3.0
AIP-136628	1	126	2.0	0.50	2.0
AIP-137169	1	57	2.0	0.38	2.0
AIP-138776	1	97	2.0	0.66	2.0
AIP-141887	3	103	2.0	0.53	2.0
AIP-142489	3	177	2.0	0.75	2.3
AIP-143132	1	60	2.0	0.65	2.0
AIP-143155	1	68	2.0	0.54	2.0
AIP-143179	3	88	2.0	0.69	2.3
AIP-146871	1	185	2.0	0.50	2.0
AIP-147176	1	85	2.0	0.63	2.0
AIP-147389	1	97	2.0	0.56	2.0
AIP-150055	1	136	2.0	0.55	2.0
AIP-151167	1	83	2.0	0.48	2.0
AIP-151709	1	154	2.0	0.65	2.0
AIP-152283	1	75	2.0	0.34	2.0
AIP-153462	3	87	2.0	0.83	2.3
AIP-153475	1	116	2.0	1.00	3.0

FIG. 39 (Cont. 1)

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-153888	2	67	2.0	0.71	2.0
AIP-154873	2	89	2.0	0.65	2.0
AIP-156514	2	81	2.0	0.64	2.0
AIP-156760	1	58	2.0	0.64	2.0
AIP-158623	1	90	2.0	0.71	2.0
AIP-159023	1	170	2.0	0.33	2.0
AIP-159037	2	67	2.0	0.72	2.5
AIP-159326	2	69	2.0	0.97	3.0
AIP-160470	54	107	2.0	1.00	3.0
AIP-161082	1	118	2.0	0.79	3.0
AIP-164754	1	89	2.0	0.36	2.0
AIP-166120	2	72	2.0	0.92	3.0
AIP-166832	2	42	2.0	0.61	2.0
AIP-166959	1	135	2.0	0.46	2.0
AIP-167246	1	57	2.0	0.70	2.0
AIP-167726	3	204	2.0	0.63	2.3
AIP-168083	1	115	2.0	0.81	3.0
AIP-168605	2	71	2.0	0.60	2.0
AIP-169636	1	99	2.0	0.61	2.0
AIP-170053	1	118	2.0	0.51	2.0
AIP-170569	2	76	2.0	0.68	2.0
AIP-172872	2	98	2.0	0.46	2.0
AIP-173276	1	98	2.0	0.54	2.0
AIP-175775	2	90	2.0	0.80	2.5
AIP-177584	1	137	2.0	0.34	2.0
AIP-179097	2	82	2.0	0.80	3.0
AIP-181246	2	161	2.0	0.74	2.0
AIP-183133	1	136	2.0	0.49	2.0
AIP-183190	1	68	2.0	0.57	2.0
AIP-183350	2	76	2.0	0.88	3.0
AIP-184151	1	191	2.0	0.46	2.0
AIP-185291	1	123	2.0	0.59	2.0
AIP-185304	1	174	2.0	0.70	2.0
AIP-186435	2	136	2.0	0.44	2.0
AIP-186826	2	108	2.0	0.62	2.0
AIP-188155	2	111	2.0	0.80	2.5
AIP-189338	3	120	2.0	0.81	3.0
AIP-189473	2	85	2.0	0.84	2.5
AIP-189475	2	147	2.0	0.62	2.0
AIP-190274	2	120	2.0	0.74	2.5
AIP-190362	1	99	2.0	0.39	2.0
AIP-190526	1	57	2.0	0.71	2.0
AIP-190761	2	104	2.0	0.77	2.5
AIP-190915	1	174	2.0	0.83	3.0

FIG. 39 (Cont. 2)

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-191735	2	70	2.0	0.85	2.5
AIP-192216	2	155	2.0	0.54	2.0
AIP-192275	2	103	2.0	0.72	2.0
AIP-192571	2	110	2.0	0.66	2.0
AIP-193490	1	158	2.0	0.16	1.0
AIP-195587	3	99	2.0	0.81	3.0
AIP-195588	1	107	2.0	0.70	2.0
AIP-197886	1	106	2.0	0.40	2.0
AIP-198351	2	51	2.0	0.87	3.0
AIP-199834	3	114	2.0	0.77	2.3
AIP-102396	2	139	1.5	0.56	2.0
AIP-103817	2	177	1.5	0.79	2.5
AIP-106139	2	148	1.5	0.81	2.5
AIP-126080	2	191	1.5	0.65	2.5
AIP-143369	2	196	1.5	0.69	2.5
AIP-155066	2	165	1.5	0.82	2.5
AIP-160621	2	286	1.5	0.54	2.0
AIP-161571	2	122	1.5	0.58	2.0
AIP-187893	2	154	1.5	0.85	3.0
AIP-191470	2	118	1.5	0.71	2.5
AIP-197809	2	307	1.5	0.63	2.0
AIP-199483	2	179	1.5	0.60	2.0
AIP-135247	3	233	1.3	0.66	2.0
AIP-192329	3	221	1.3	0.56	2.0
AIP-102833	1	300	1.0	0.60	2.0
AIP-103803	1	198	1.0	0.71	2.0
AIP-104188	1	433	1.0	0.17	1.0
AIP-115388	2	319	1.0	0.92	3.0
AIP-118505	1	297	1.0	0.46	2.0
AIP-120546	1	327	1.0	0.54	2.0
AIP-122563	1	260	1.0	0.63	2.0
AIP-124013	1	263	1.0	0.57	2.0
AIP-126175	1	483	1.0	0.36	2.0
AIP-133645	1	154	1.0	0.64	2.0
AIP-136538	1	471	1.0	0.56	2.0
AIP-142079	1	148	1.0	0.75	3.0
AIP-145518	1	308	1.0	0.78	3.0
AIP-145722	1	310	1.0	0.69	2.0
AIP-147652	1	456	1.0	0.58	2.0
AIP-148327	1	452	1.0	0.03	0.0
AIP-150485	1	336	1.0	0.63	2.0
AIP-151090	1	231	1.0	0.87	3.0
AIP-152243	1	402	1.0	0.65	2.0
AIP-157122	2	174	1.0	0.71	2.0

FIG. 39 (Cont. 3)

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-157397	1	283	1.0	0.42	2.0
AIP-161048	1	377	1.0	0.49	2.0
AIP-163039	2	223	1.0	0.76	2.5
AIP-165430	1	145	1.0	0.75	2.0
AIP-166847	2	239	1.0	0.60	2.5
AIP-167084	1	358	1.0	0.58	2.0
AIP-167400	1	338	1.0	0.59	2.0
AIP-167833	2	304	1.0	0.60	2.0
AIP-171074	1	237	1.0	0.48	2.0
AIP-171142	2	282	1.0	0.64	2.0
AIP-171912	1	294	1.0	0.72	2.0
AIP-172643	2	237	1.0	0.51	2.0
AIP-173396	1	225	1.0	0.37	2.0
AIP-182061	1	329	1.0	0.76	3.0
AIP-182722	1	488	1.0	0.35	2.0
AIP-184490	1	256	1.0	0.34	2.0
AIP-190749	1	294	1.0	0.52	2.0
AIP-192482	2	322	1.0	0.57	2.0
AIP-196203	3	299	1.0	0.57	2.0
AIP-100196	1	>500 nM	0.0	0.29	1.0
AIP-105092	1	>500 nM	0.0	0.32	2.0
AIP-106042	1	>500 nM	0.0	0.32	2.0
AIP-109364	1	>500 nM	0.0	0.55	2.0
AIP-115782	1	>500 nM	0.0	0.39	2.0
AIP-123438	1	>500 nM	0.0	0.56	2.0
AIP-124068	1	>500 nM	0.0	0.31	2.0
AIP-124301	1	>500 nM	0.0	0.38	2.0
AIP-126097	1	>500 nM	0.0	0.54	2.0
AIP-129967	1	>500 nM	0.0	0.22	1.0
AIP-132355	1	>500 nM	0.0	0.19	1.0
AIP-135679	1	>500 nM	0.0	0.44	2.0
AIP-138130	1	>500 nM	0.0	0.51	2.0
AIP-139782	1	>500 nM	0.0	0.26	1.0
AIP-140148	1	>500 nM	0.0	0.31	2.0
AIP-141706	1	>500 nM	0.0	0.40	2.0
AIP-144568	1	>500 nM	0.0	0.45	2.0
AIP-145212	1	>500 nM	0.0	0.30	2.0
AIP-147945	1	>500 nM	0.0	0.45	2.0
AIP-148102	1	>500 nM	0.0	0.46	2.0
AIP-148484	1	>500 nM	0.0	0.38	2.0
AIP-149787	1	>500 nM	0.0	0.39	2.0
AIP-150277	1	>500 nM	0.0	0.44	2.0
AIP-151315	1	>500 nM	0.0	0.28	1.0
AIP-151388	1	>500 nM	0.0	0.51	2.0

FIG. 39 (Cont. 4)

Número de AIP	Número de Expt	CE ₅₀ (nM)	Rango de CE ₅₀	ΔActividad (en relación con AIP-160470)	Rango de ΔActividad
AIP-152031	1	>500 nM	0.0	0.58	2.0
AIP-155587	1	>500 nM	0.0	0.62	2.0
AIP-156172	1	>500 nM	0.0	0.74	2.0
AIP-163319	1	>500 nM	0.0	0.35	2.0
AIP-165276	1	>500 nM	0.0	0.45	2.0
AIP-166629	1	>500 nM	0.0	0.60	2.0
AIP-167482	1	>500 nM	0.0	0.14	1.0
AIP-169676	1	>500 nM	0.0	0.37	2.0
AIP-170221	1	>500 nM	0.0	0.66	2.0
AIP-171348	1	>500 nM	0.0	0.31	2.0
AIP-171543	1	>500 nM	0.0	0.27	1.0
AIP-177193	1	>500 nM	0.0	0.72	2.0
AIP-178251	1	>500 nM	0.0	0.91	3.0
AIP-180905	1	>500 nM	0.0	0.15	1.0
AIP-181592	1	>500 nM	0.0	0.36	2.0
AIP-182087	1	>500 nM	0.0	0.35	2.0
AIP-186403	1	>500 nM	0.0	0.45	2.0
AIP-188293	1	>500 nM	0.0	0.35	2.0
AIP-189296	1	>500 nM	0.0	0.56	2.0
AIP-191805	1	>500 nM	0.0	0.40	2.0
AIP-193088	1	>500 nM	0.0	0.31	2.0
AIP-193106	1	>500 nM	0.0	0.44	2.0
AIP-197785	1	>500 nM	0.0	0.46	2.0
AIP-198092	1	>500 nM	0.0	0.18	1.0
AIP-199264	1	>500 nM	0.0	0.35	2.0
AIP-199616	1	>500 nM	0.0	0.24	1.0

FIG. 39 (Cont. 5)

Variantes de AIP-160470 Seleccionadas para la Ronda 1 del Estudio *in-vivo*

ID del Anticuerpo	Grupo	Mutaciones	CE50	Rango de CE50	Rango de dAct
AIP-167533	Combinación HCDR2	H53SA, H54VA, H55TD, H58EK, H59TQ	52 nM	2.5	2.0
AIP-180675	Mutación HCDR3	H126YF	17 nM	3.5	2.5
AIP-126080	Combinación HCDR3	H121YN, H123SQ	191 nM	1.5	2.5
AIP-186435	Combinación HCDR3	H103CA, H117CV	136 nM	2.0	2.0
AIP-161571	Combinación HCDR3	H108SN, H113DE, H119GN	122 nM	1.5	2.0
AIP-163039	Combinación HCDR3	H102F, H105RL, H120QS	223 nM	1.0	2.5
AIP-101235	Combinación HCDR3	H106GS, H112HS, H118GN	51 nM	2.0	3.0
AIP-172643	Combinación HCDR3	H101ST, H110PL, H126YW	237 nM	1.0	2.0
AIP-181246	Combinación HCDR3	H127MV, H128DN, H129VI	161 nM	2.0	2.0
AIP-192216	Combinación HCDR3	H100ST, H107GA, H118GA, H120QS	155 nM	2.0	2.0
AIP-112580	Combinación HCDR3	H99TI, H107GN, H112HS, H118GN	84 nM	2.0	2.5
AIP-170105	Mutación LCDR1	L35SY	28 nM	3.5	3.0
AIP-136060	Combinación LCDR2	L53NS, L54QL, L57SQ	51 nM	2.5	2.5
AIP-172872	Combinación CDR	H59TQ, L53NT, L97SN	98 nM	2.0	2.0
AIP-190051	Combinación CDR	H35ST, L26SP, L95SA	43 nM	2.5	3.0
AIP-168605	Combinación CDR	L28ND, L93DN, L95SA	71 nM	2.0	2.0

FIG. 40

Variantes de AIP-160470 Seleccionadas para la Ronda 2 del Estudio *in-vivo*

ID del Anticuerpo	Grupo	Comentarios	CE50	Rango de CE50	Rango de dAct
AIP-101235	Combinación HCDR3	TSSFCCRSGSCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (3)	51 nM	2.0	3.0
AIP-189473	Combinación HCDR3	TTSFCCRSGSCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (9)	85 nM	2.0	2.5
AIP-192571	Combinación HCDR3	TTSFCCRSGSCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (5)	110 nM	2.0	2.0
AIP-125258	Combinación HCDR3	ISSECCRSGKQCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (9)	31 nM	3.5	3.0
AIP-150199	Combinación HCDR3	ISSECCRSGKQCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (6)	26 nM	3.5	3.0
AIP-115388	Combinación HCDR3	ISSECCRSGKQCPSSDTSYCNQKSYYYMDV (10)	319 nM	1.0	3.0
AIP-143369	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, L1, L2 (8)	196 nM	1.5	2.5
AIP-157045	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, L1, L2, L3 (9)	21 nM	4.0	3.0
AIP-175775	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H3, L1, L2, L3 (10)	90 nM	2.0	2.5
AIP-154181	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, H3, L1, L2, L3 (9)	46 nM	3.0	2.0
AIP-125984	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, L1, L2, L3 (9)	80 nM	2.0	2.5
AIP-160829	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, H3, L1, L2, L3 (12)	17 nM	4.0	3.0
AIP-184744	Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, H3, L1, L2, L3 (11)	24 nM	3.5	2.5
AIP-127782	Intercambio de Marco	IGHV3-72, IGLV1-51	76 nM	2.5	3.0
AIP-128136	Mejoría de Afinidad	8 Mutaciones	1 nM	4.0	3.0
AIP-181273	Mejoría de Afinidad	Subconjunto A de AIP-128136 (4)	9 nM	4.0	3.0
AIP-153125	Mejoría de Afinidad	Subconjunto B de AIP-128136 + L33SY (5)	2 nM	4.0	3.0

FIG. 41

Diseño del Estudio

No. de Grp	Art. Ensayo 1	No. Pedido ATUM	No. de Lote	nivel de dosis (mg/kg)	Frec. de Dosis	n	No. de Dosis	Ruta	MODELO
1	AIP-127782	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
2	AIP-189473	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
3	AIP-192571	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
4	AIP-125258	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
5	AIP-150199	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
6	AIP-115388	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
7	AIP-143369	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
8	AIP-157045	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
9	AIP-175775	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
10	AIP-154181	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
11	AIP-125984	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
12	AIP-160829	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
13	AIP-184744	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
14	AIP-128136	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
15	AIP-181273	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
16	AIP-153125	113823	2	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
17	AIP-101235	113823	3	5	2Wk x 2	10	4	i.p.	EMT6
18	AIP-192482	113823	60	5	2Wk x 2	20	4	i.p.	EMT6
19	AIP-160470	113823	56	5	2Wk x 2	20	4	i.p.	EMT6
20	PBS			0	2Wk x 2	20	4	i.p.	EMT6

Esquema del Estudio

el estudio ensayó 16 variantes nuevas + 1 (de la ronda 1) + 2 en el modelo tumoral EMT6

Todos los anticuerpos se ensayaron a 5 mg/kg el plan de dosificación fue 2x/Sem para 4 dosis

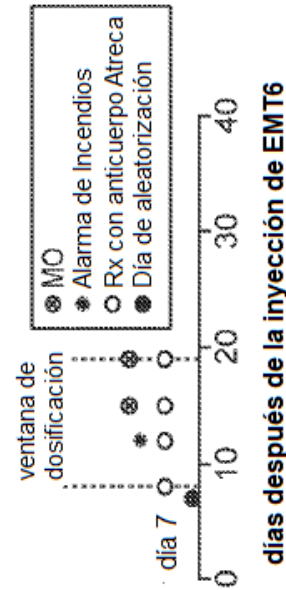
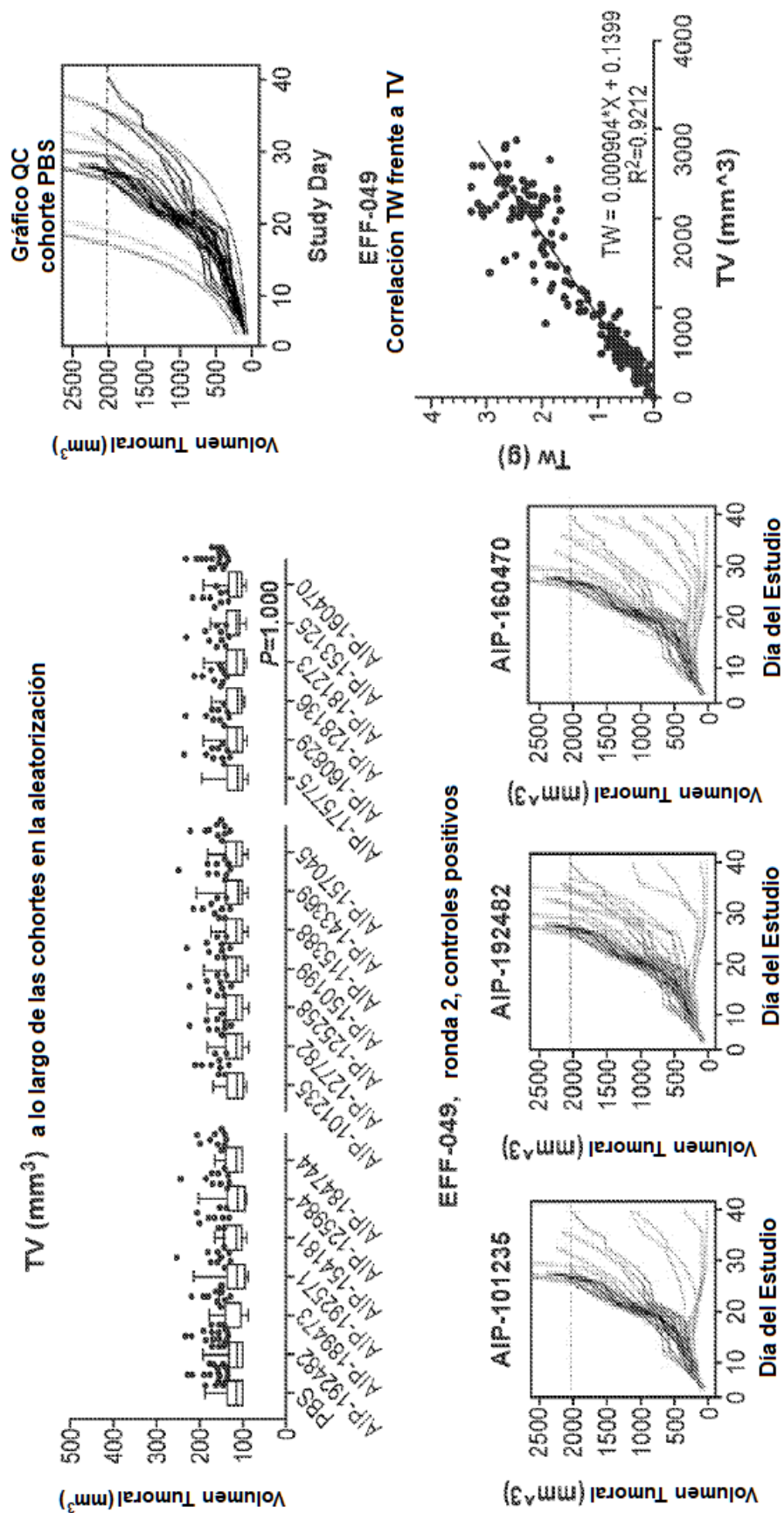


FIG. 42



Mediciones del Rendimiento de los Anticuerpos
anticuerpos clasificados por supervivencia media (días)

ID del Anticuerpo	Mediana de Super- vivencia	Valor p del Rango Log	Mediana de Super- vivencia Ref.
AIP-192571		3.0E-05	28
AIP-101235		1.9E-02	28
AIP-189473	40	2.6E-03	28
AIP-125258	40	2.2E-03	28
AIP-160470	36	1.1E-02	28
AIP-150199	34	2.7E-02	28
AIP-157045	33.5	1.8E-02	28
AIP-127782	30	7.5E-02	28
AIP-181273	30	4.4E-02	28
AIP-125984	28	5.5E-01	28
AIP-128136	27	4.8E-01	28
AIP-175775	27	2.7E-01	28
AIP-192482	26	2.1E-01	28
AIP-115388	23	4.7E-01	28
AIP-160829	19	9.5E-01	28
AIP-143369	19	9.2E-01	28
AIP-184744	19	9.1E-01	28
AIP-153125	19	4.5E-01	28
AIP-154181	19	4.4E-01	28

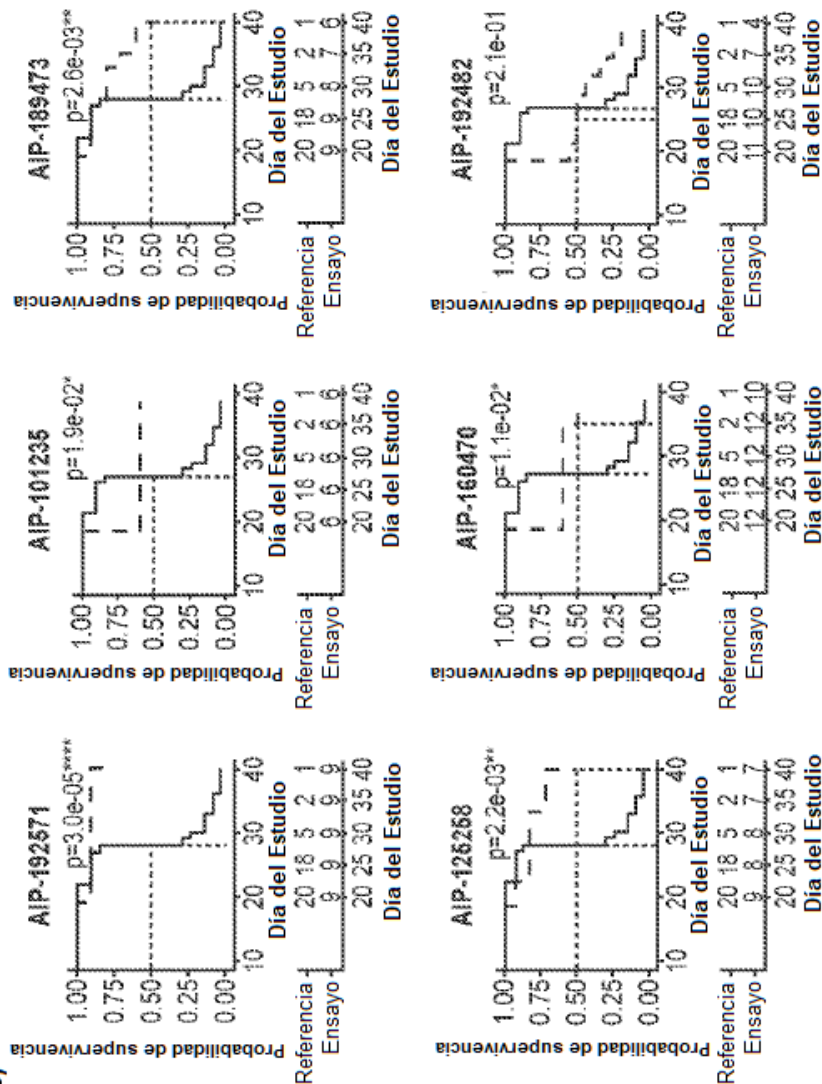


FIG. 44

Anticuerpos con los anticuerpos con la respuesta más eficaz clasificados por tamaño del efecto NAAC

ID del Anticuerpo	n	Tamaño del efecto NAAC	Valor p de NAAC
AIP-181273	6	0.4500	6.9E-05
AIP-101235	6	0.4384	9.9E-06
AIP-192571	9	0.4338	3.2E-07
AIP-184744	2	0.4139	5.8E-03
AIP-175775	4	0.4108	1.7E-04
AIP-160470	12	0.4104	1.9E-08
AIP-153125	4	0.4032	1.2E-03
AIP-127782	6	0.3921	6.9E-05
AIP-143389	2	0.3513	5.8E-03
AIP-157045	8	0.3288	7.4E-04
AIP-189473	6	0.3152	3.7E-06
AIP-125258	8	0.3150	6.5E-06
AIP-150199	7	0.3108	5.5E-05
AIP-154181	4	0.3043	3.3E-04
AIP-115388	4	0.2806	6.7E-04
AIP-160829	2	0.2775	3.5E-02
AIP-192482	10	0.2482	5.3E-06
AIP-125984	5	0.1528	2.3E-03
AIP-128136	6	0.1319	2.6E-02

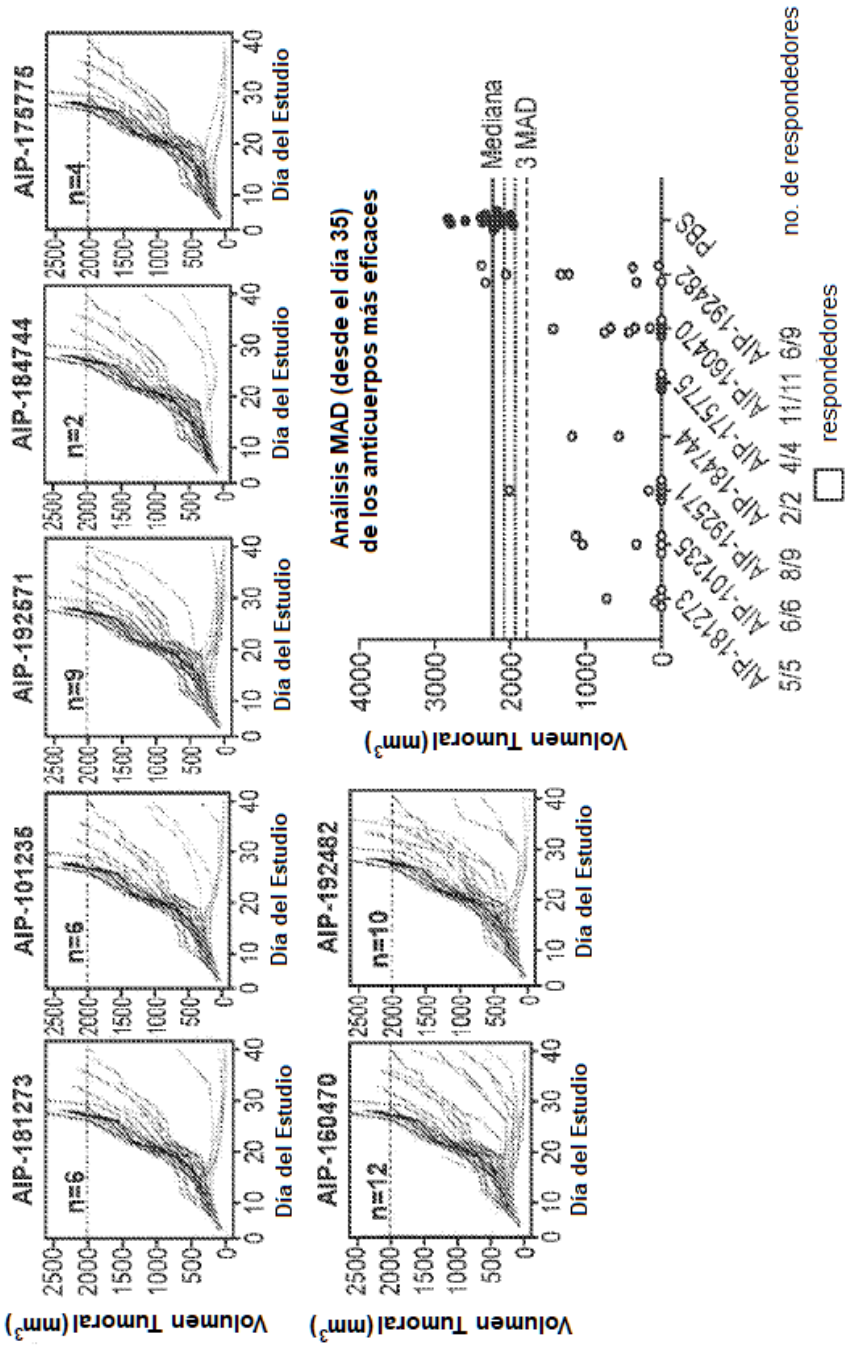


FIG. 45

Anticuerpos con la
respuesta más eficaz
anticuerpos clasificados por tamaño de efecto NGRM

ID del Anticuerpo	n	Efecto del tamaño de NGRM	Valor p de NGRM
AIP-175775	4	0.5775	1.7E-04
AIP-181273	6	0.5364	4.0E-05
AIP-192571	9	0.5229	3.2E-07
AIP-127782	6	0.4436	3.0E-04
AIP-101235	6	0.4433	9.9E-06
AIP-143369	2	0.3187	5.8E-03
AIP-154181	4	0.3142	6.7E-04
AIP-157045	8	0.3051	7.9E-03
AIP-160470	12	0.2013	3.9E-08
AIP-153125	4	0.1605	2.0E-03
AIP-160829	2	0.1269	2.3E-02
AIP-184744	2	0.1176	5.8E-03
AIP-189473	8	0.1086	6.5E-06
AIP-125258	8	0.0634	1.8E-05
AIP-150199	7	0.0540	3.5E-05
AIP-115388	4	0.0475	3.3E-04
AIP-192482	10	0.0396	5.3E-06
AIP-125984	5	0.0196	5.7E-03
AIP-128136	6	0.0115	1.1E-01

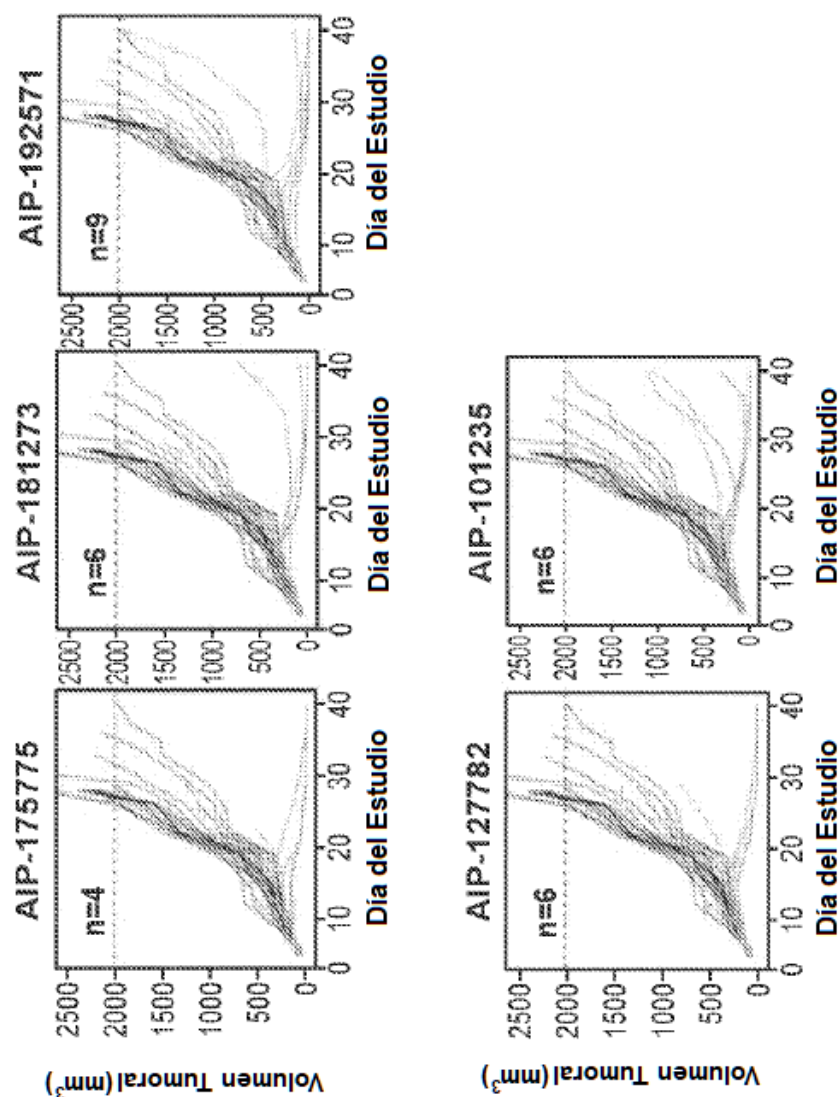
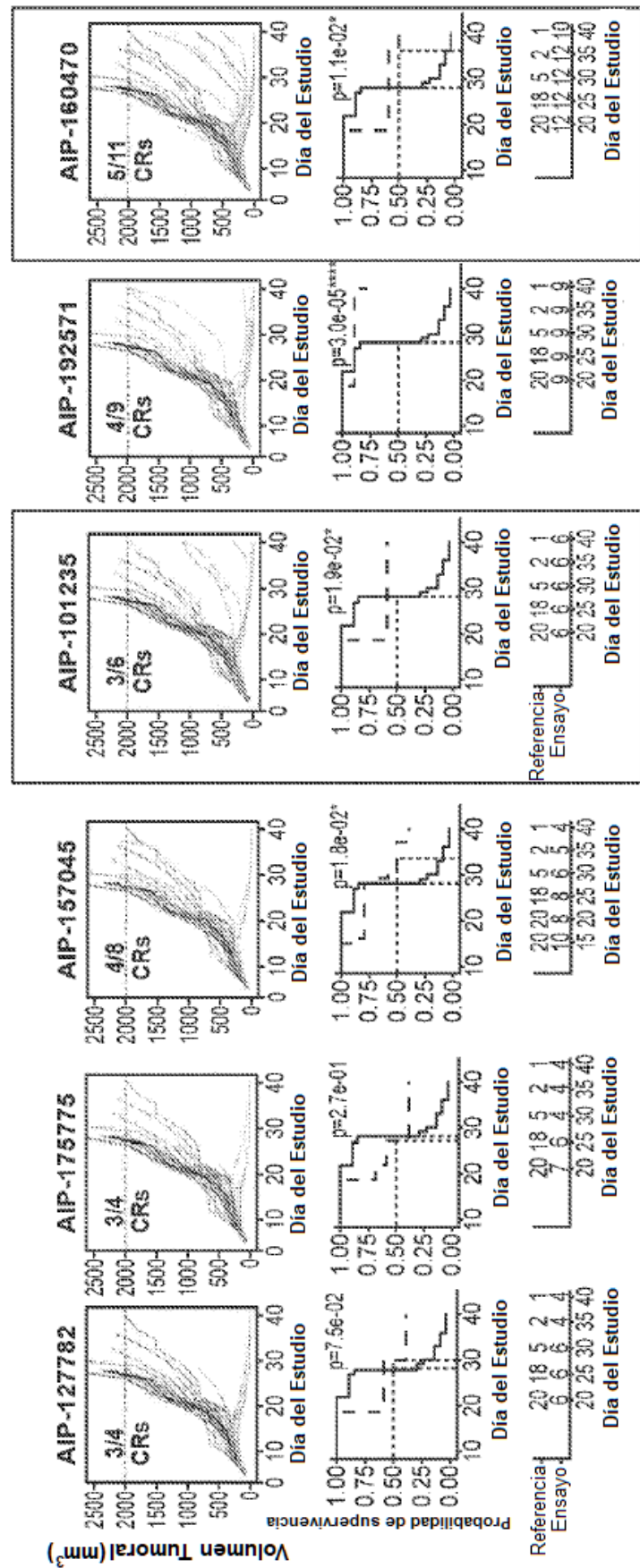


FIG. 46

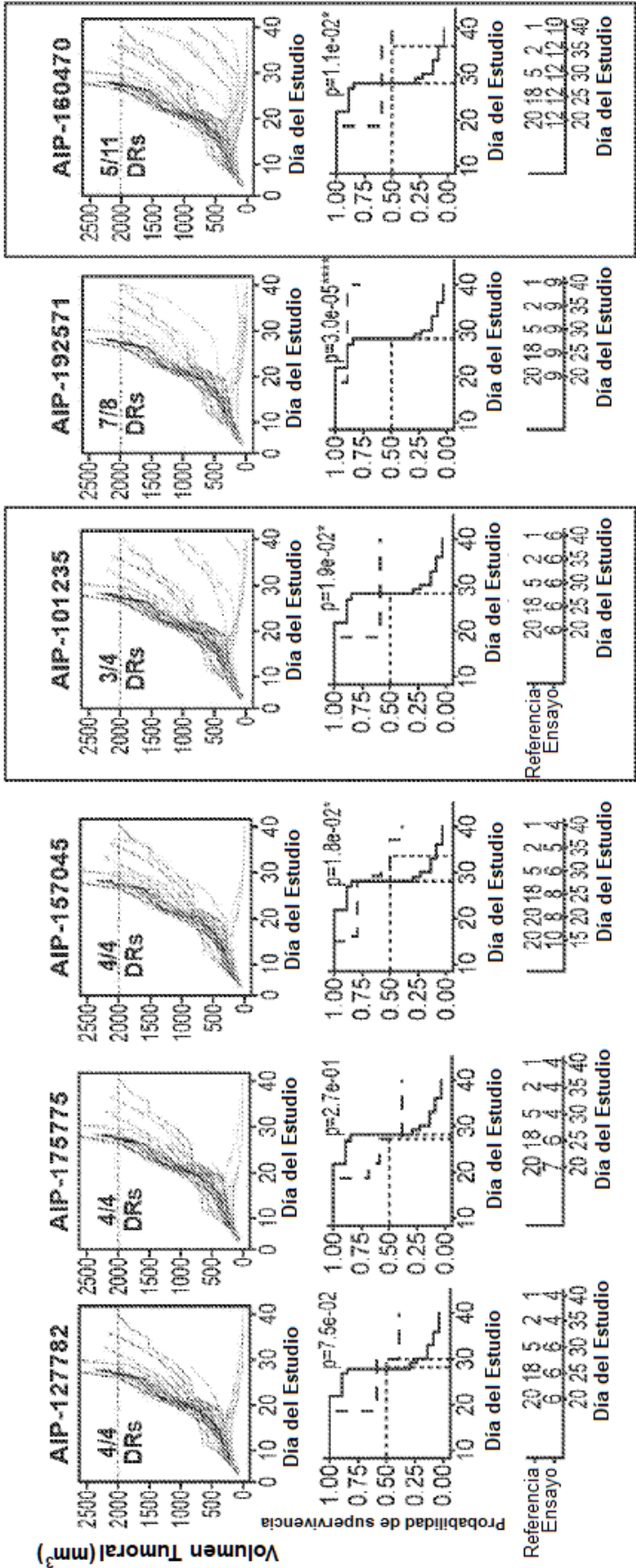
Anticuerpos con más Respuestas Completas



CR es cuando se registran tres TVM consecutivos como 0 mm³
(Análisis en el día 40)

FIG. 47

Anticuerpos con respuesta más duradera



De los ratones que mostraron una respuesta a Rx, DR representa regresión tumoral continuada después de la ventana de dosificación (Análisis en el día 40)

FIG. 48

Resumen de las variantes IP de AIP-192482 - Ronda 1 + Ronda 2

EFF-046

Grupo	Mutaciones	ID del Anticuerpo	n	Efecto del tamaño NAAC	Efecto del tamaño NGRM
Mutación HCDR3	H106GS, H112HS, H118GN	AIP-101235	9	0.376	0.285
-	Tipo salvaje	AIP-160470	17	0.366	0.317
Otras CDR	L28ND, L93DN, L95SA	AIP-168605	8	0.359	0.255
Otras CDR	H108SN, H113DE, H119GN	AIP-161571	9	0.348	0.194
Otras CDR	H35ST, L26SP, L95SA	AIP-190051	6	0.344	0.177
Diseño computacional de LCDR2	L53NS, L54QL, L57SQ	AIP-136060	10	0.342	0.082

EFF-049

Grupo	Mutaciones	ID del Anticuerpo	n	Efecto del tamaño NAAC	Efecto del tamaño NGRM
Mejoría de Afinidad	Conjunto conservativo de AIP-128136 (4)	AIP-181273	6	0.450	0.536
Mutación HCDR3	H106GS, H112HS, H118GN	AIP-101235	6	0.438	0.443
Combinación HCDR3	TSSFCCRGNCPSDTSYCGGQYPSYYMDP (5)	AIP-192571	9	0.434	0.523
Combinación CDR	Mutaciones en H1, H2, H3, L1, L2, L3 (11)	AIP-184744	2	0.414	0.118
Combinación CDR	Mutaciones en H1, H3, L1, L2, L3 (10)	AIP-175775	4	0.411	0.578
-	Tipo salvaje	AIP-160470	12	0.410	0.201

FIG. 49

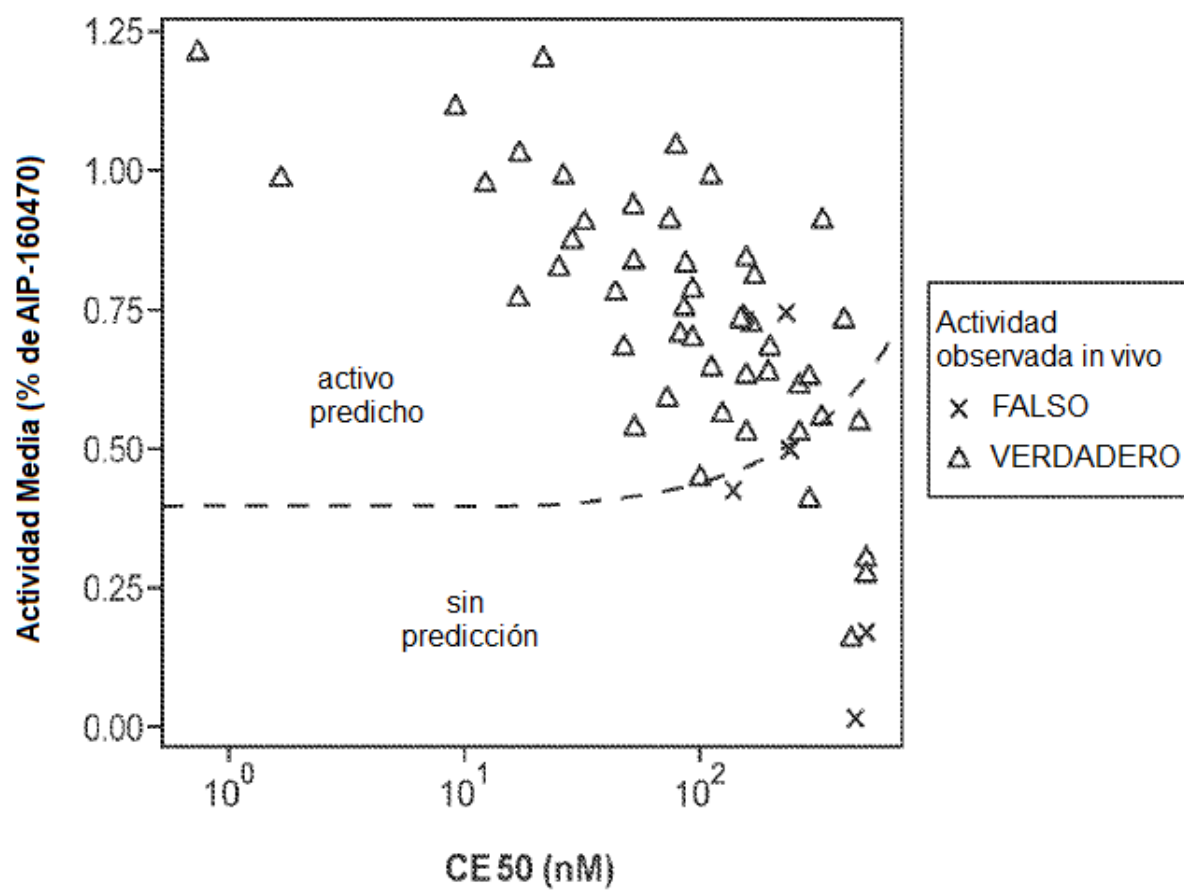


FIG. 50A

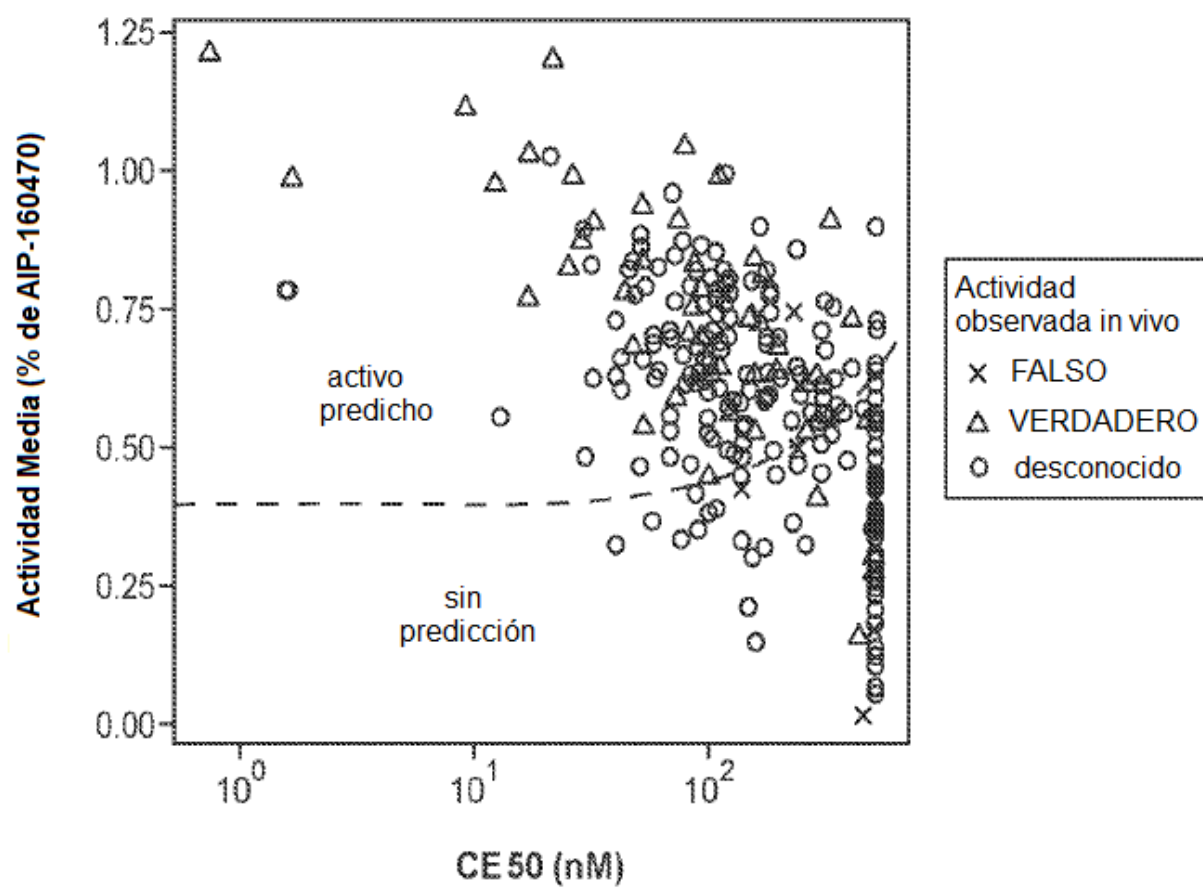


FIG. 50B

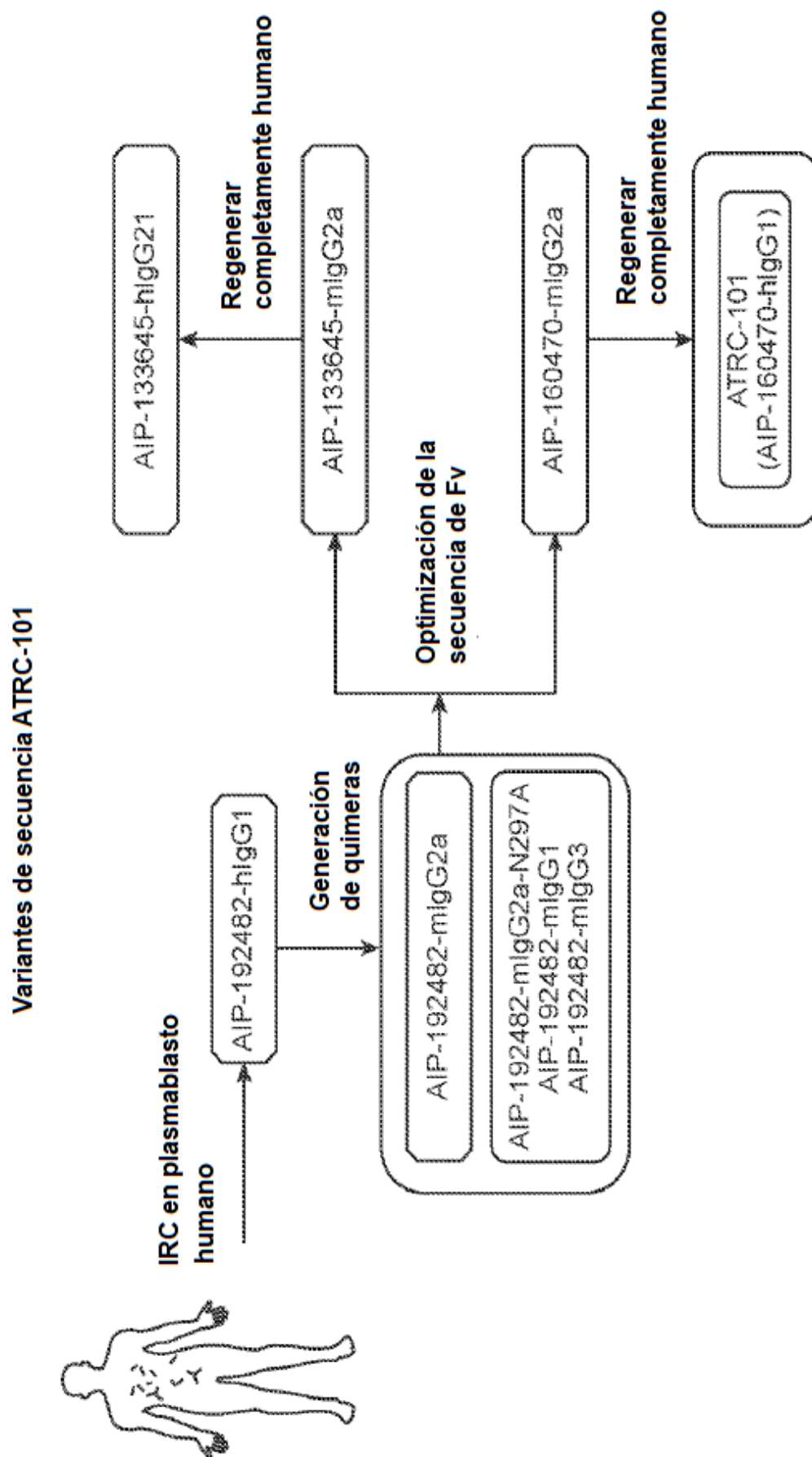


FIG. 51

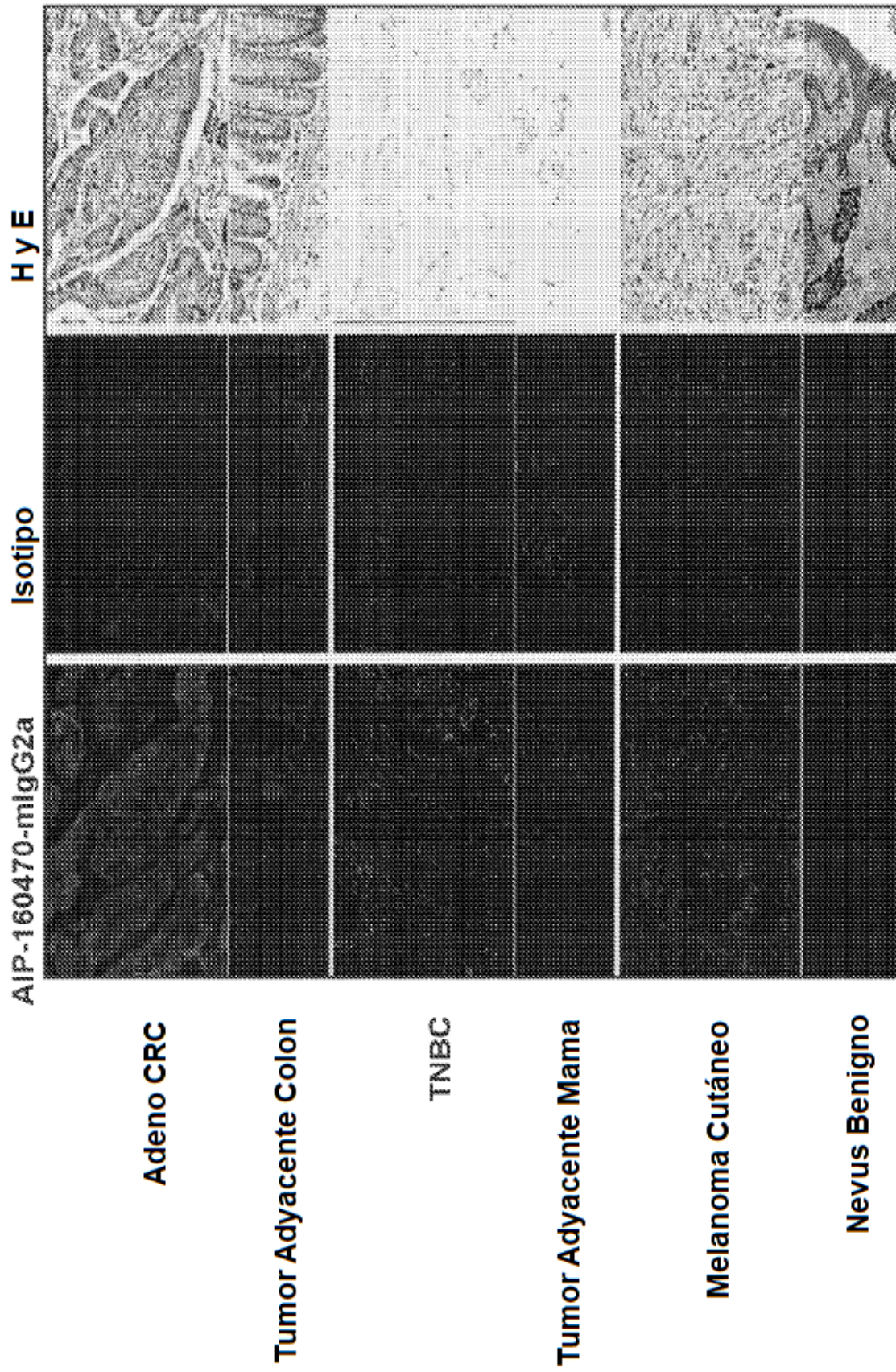


FIG. 52

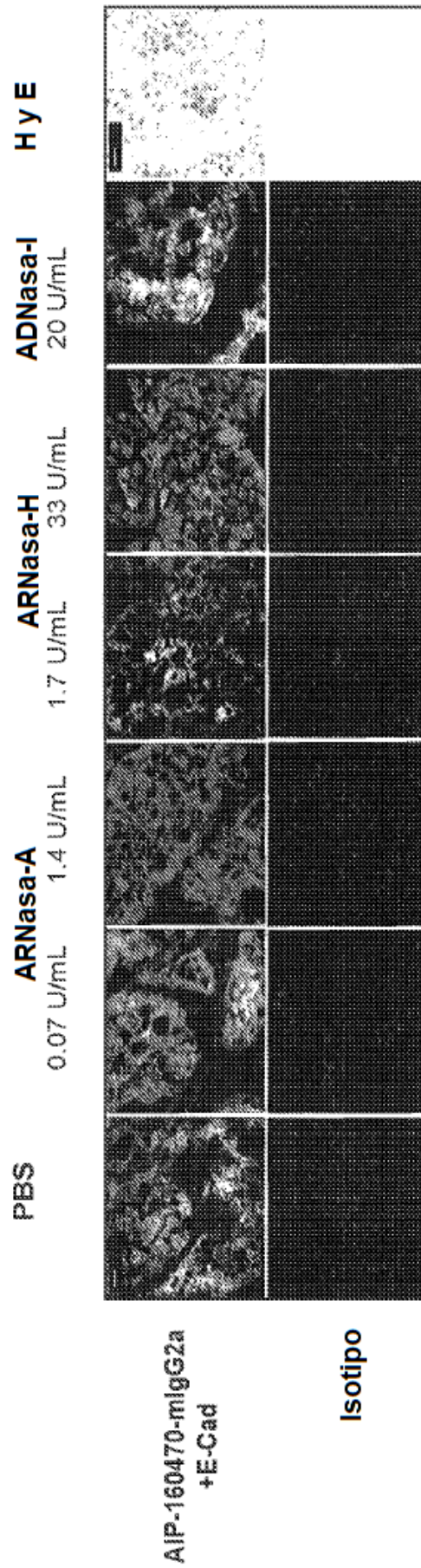


FIG. 53



FIG. 54A

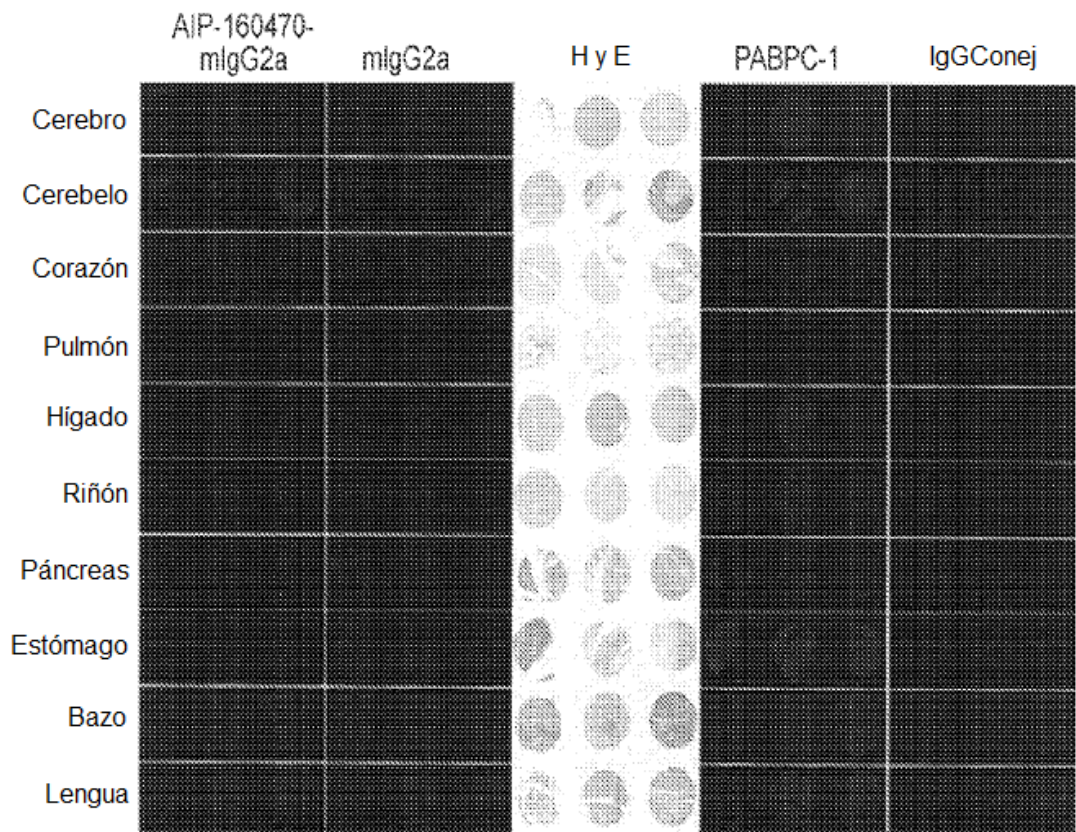


FIG. 54B

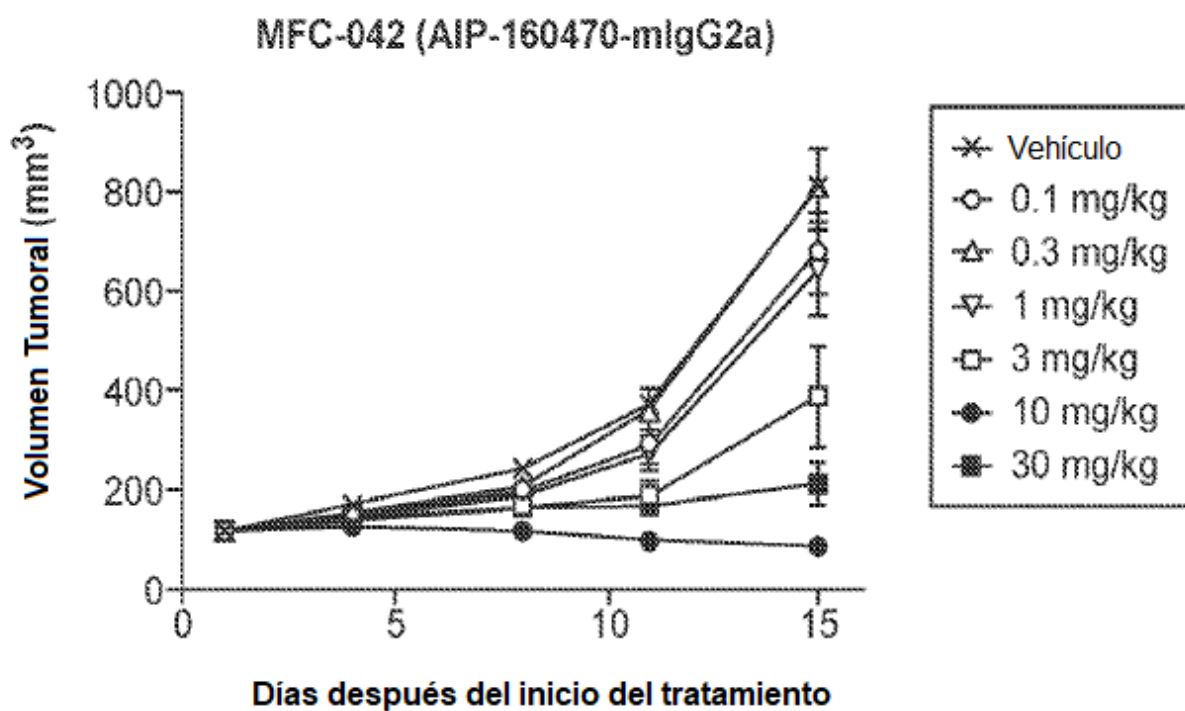


FIG. 55A

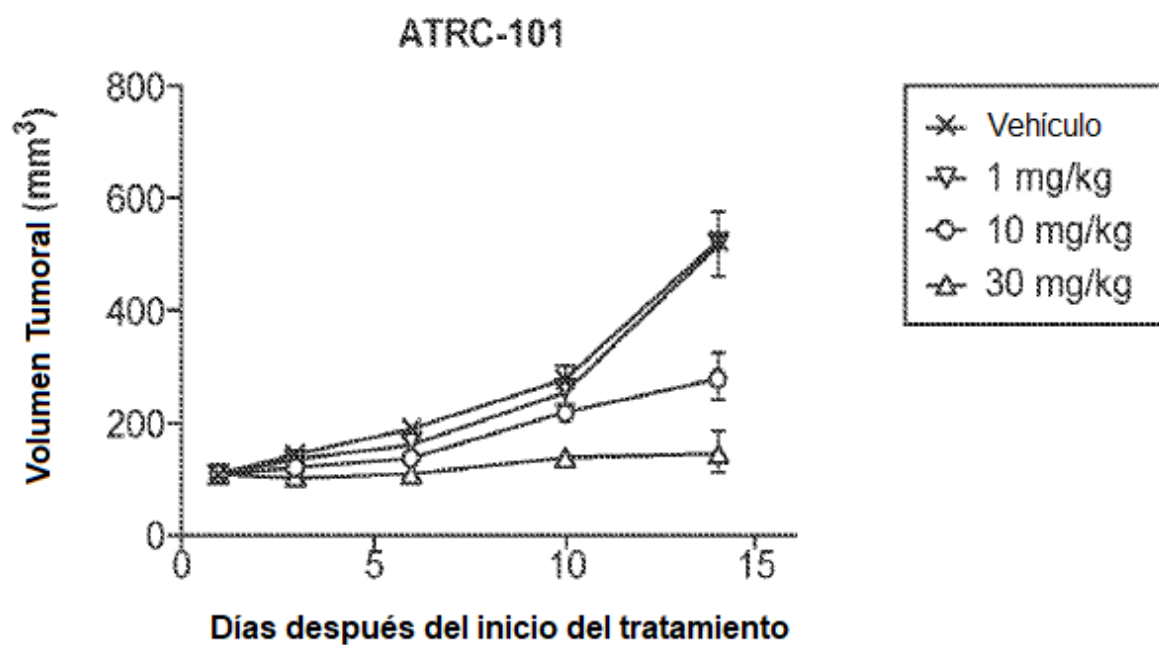


FIG. 55B

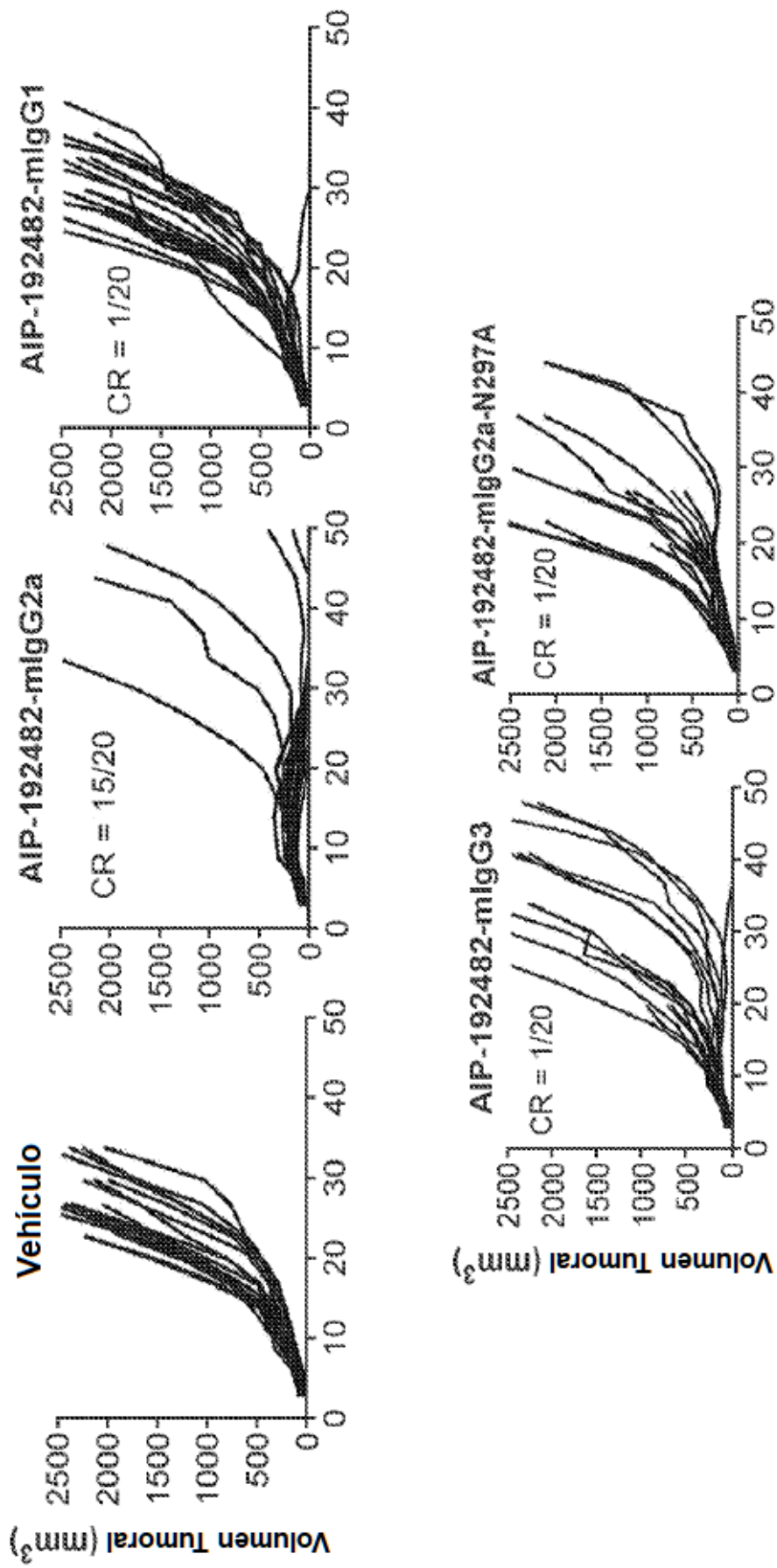


FIG. 56

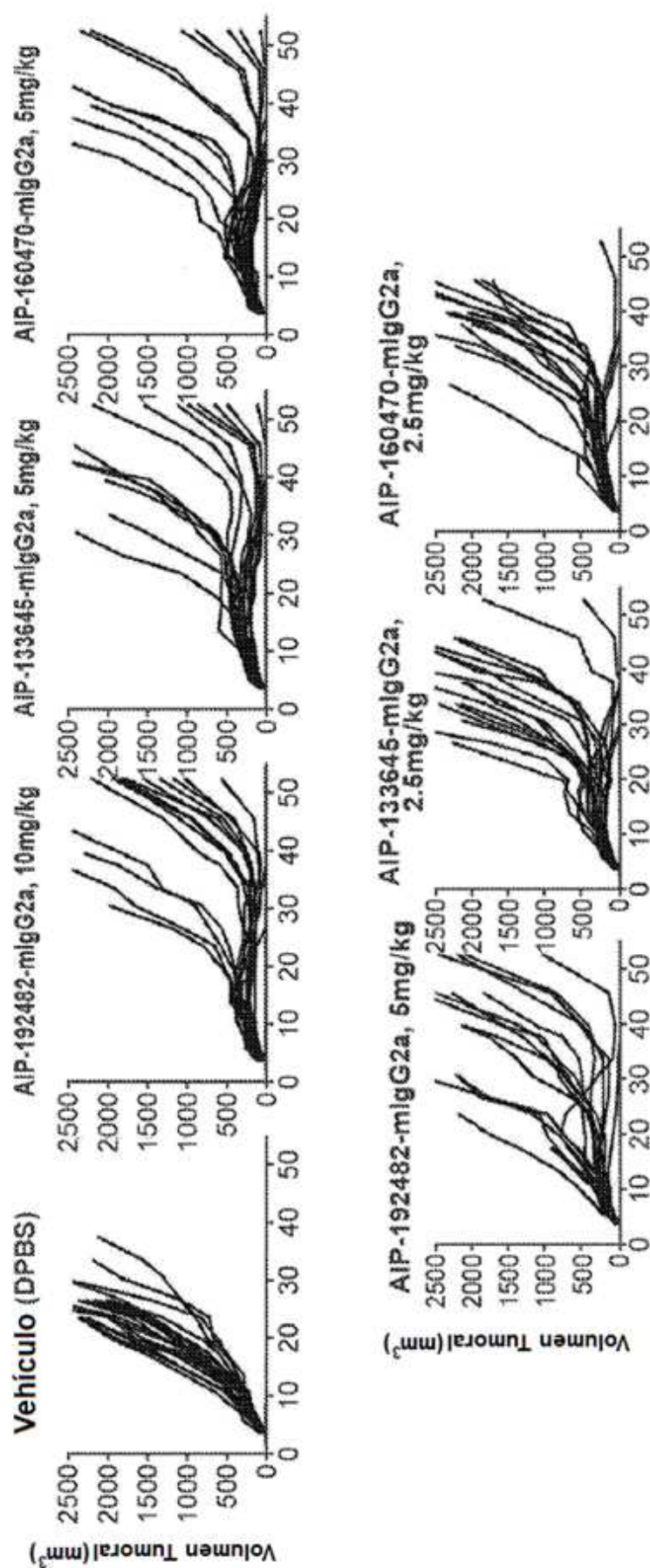
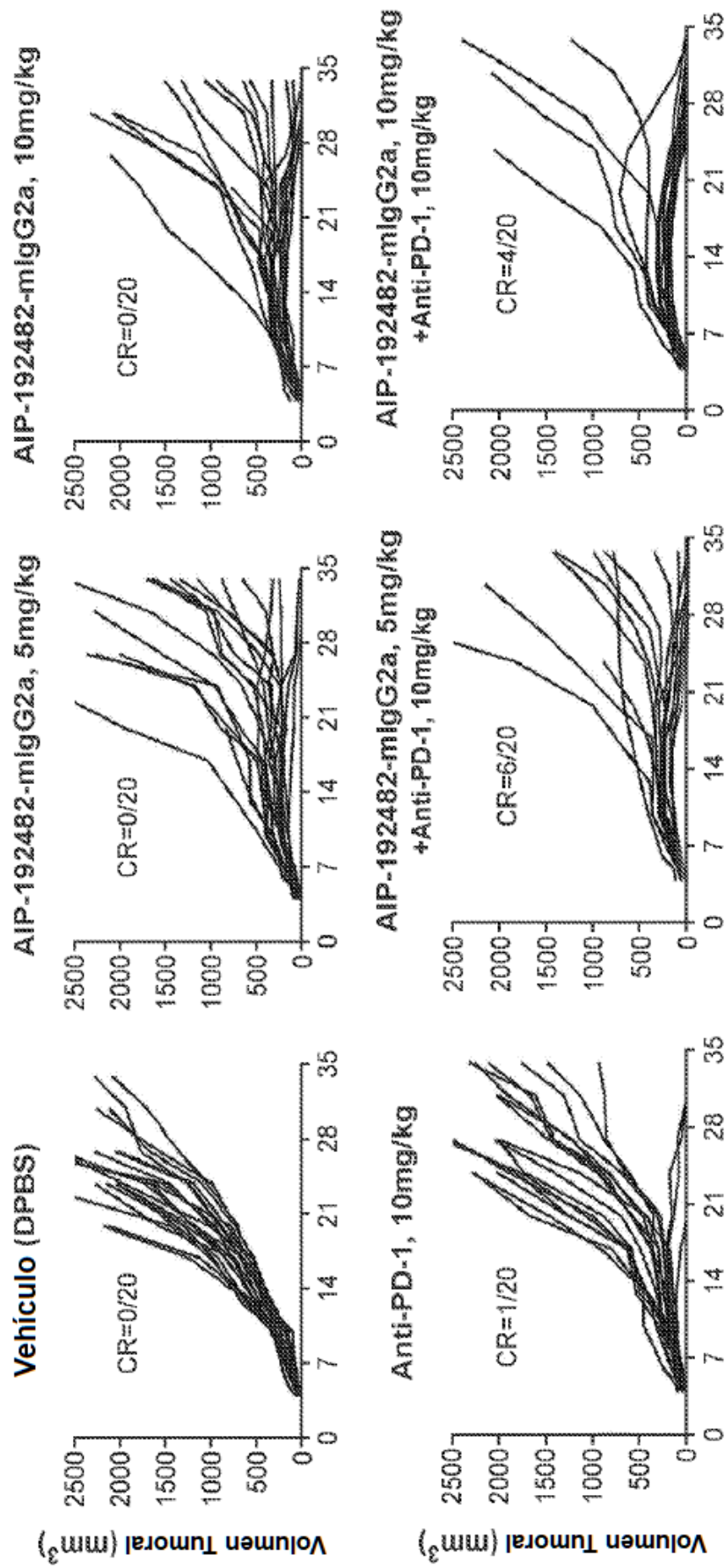
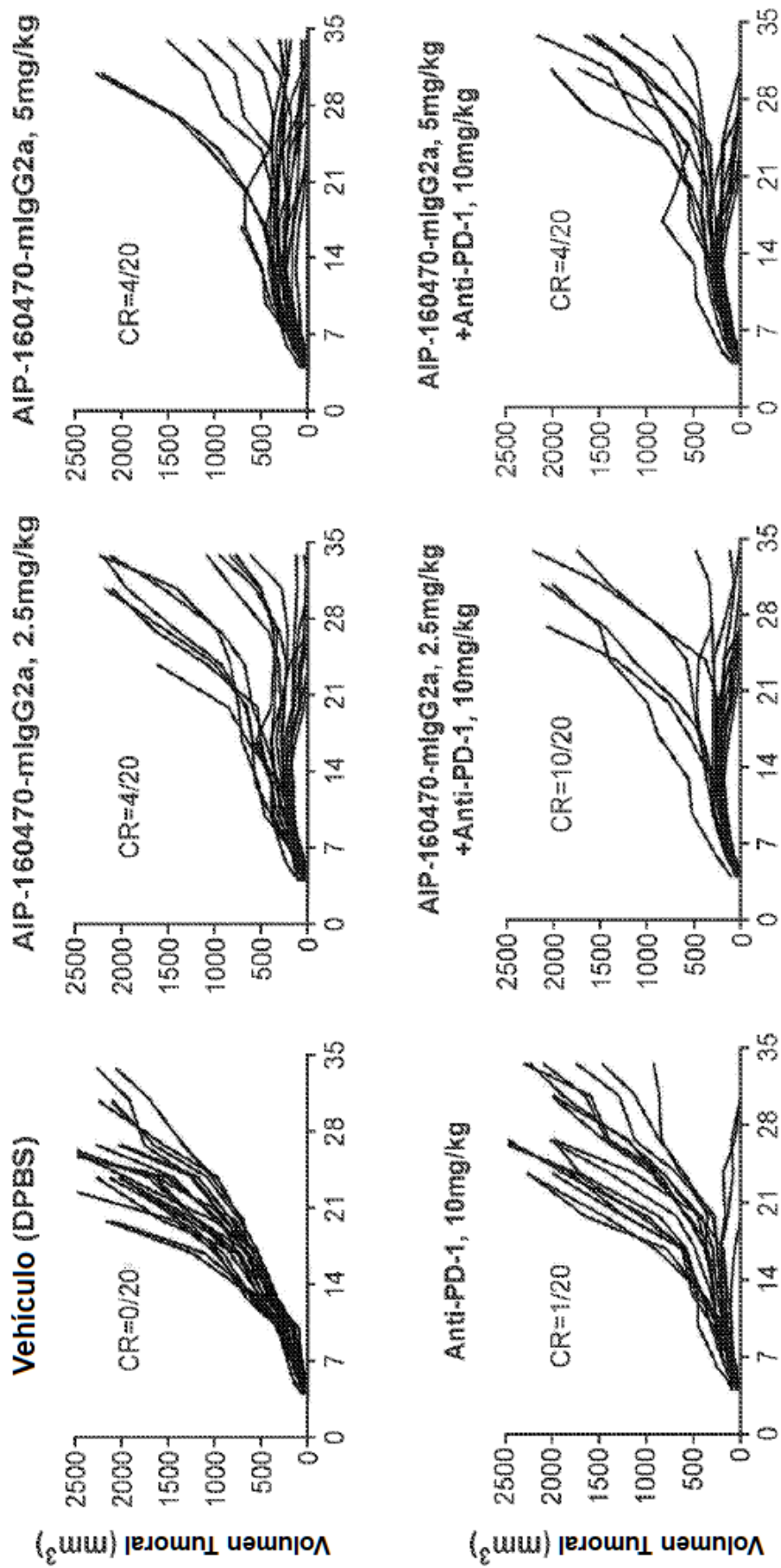


FIG. 57



Días después de la inyección de EMT6

FIG. 58A



Días después de la inyección de EMT6

FIG. 58B

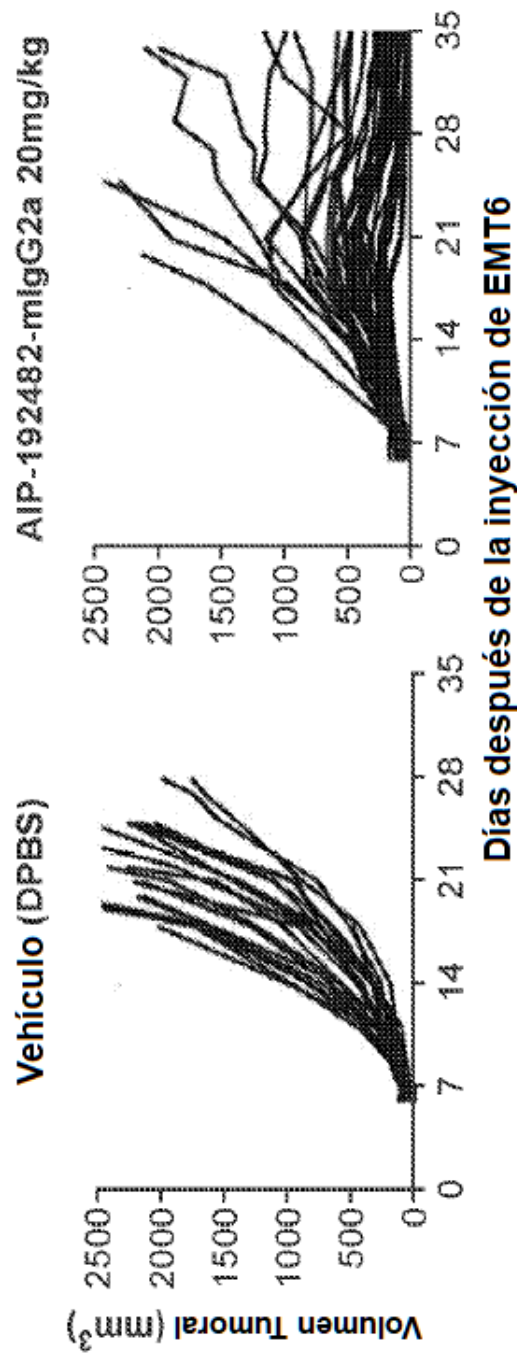


FIG. 59A

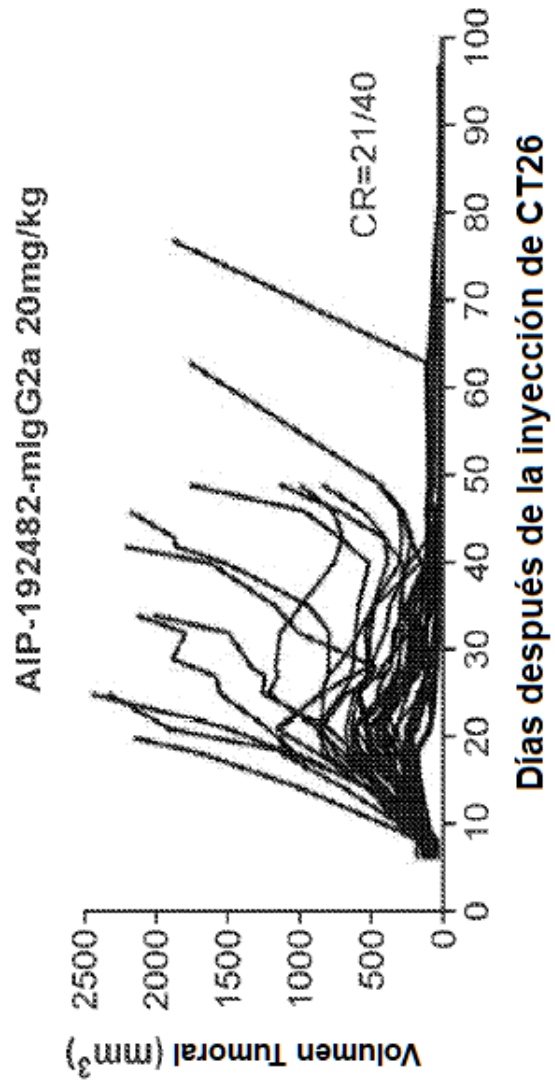
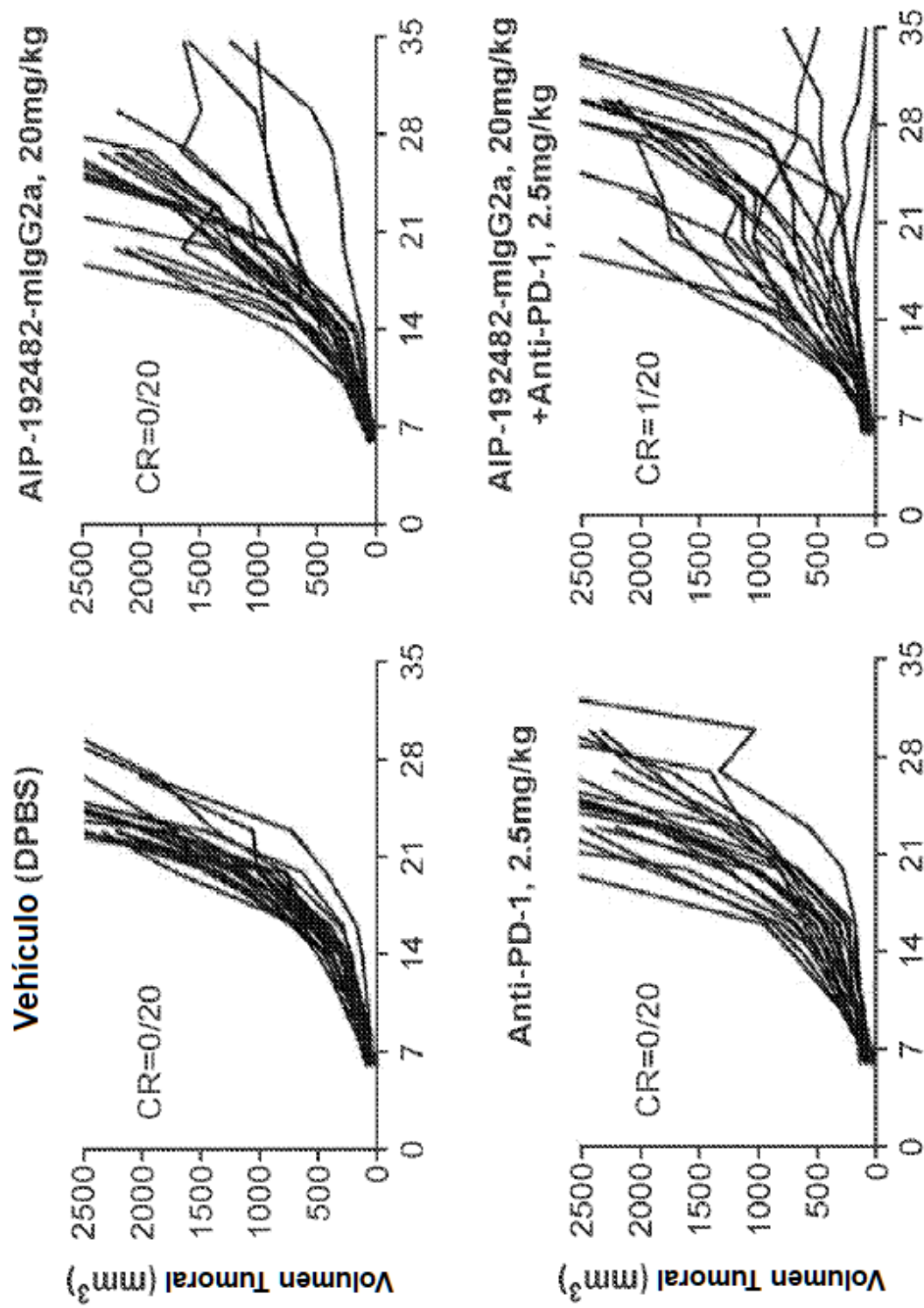
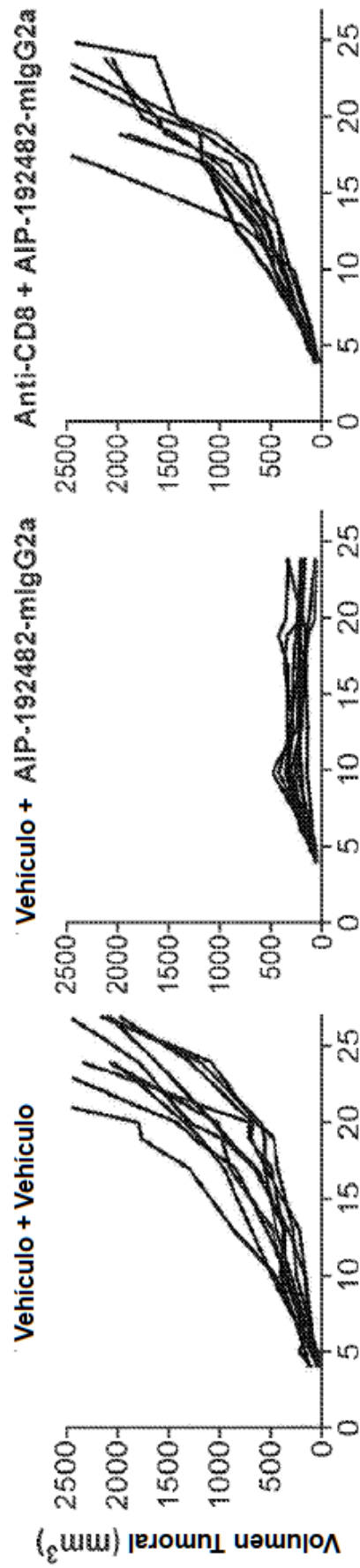


FIG. 59B



Días después de la inyección de E0771

FIG. 60



Días después de la inoculación de EMT6

FIG. 61

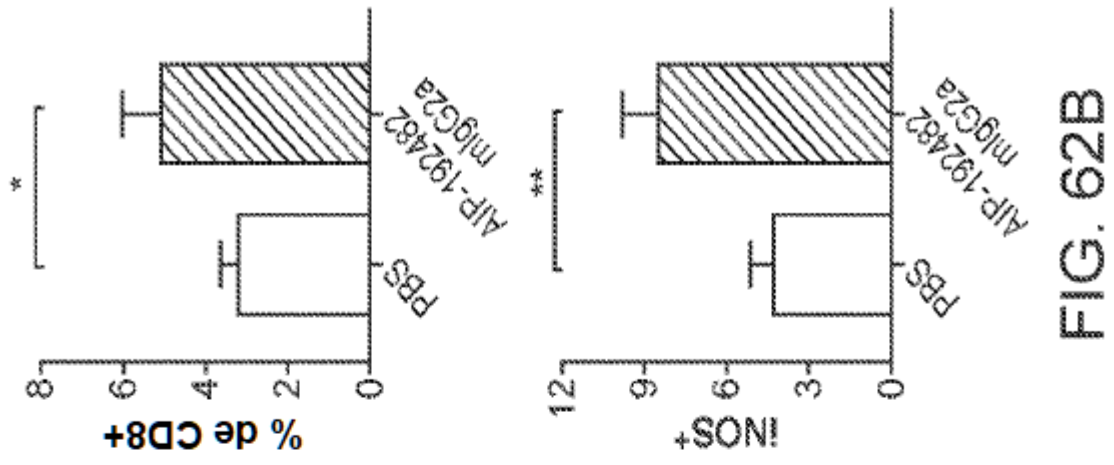


FIG. 62B

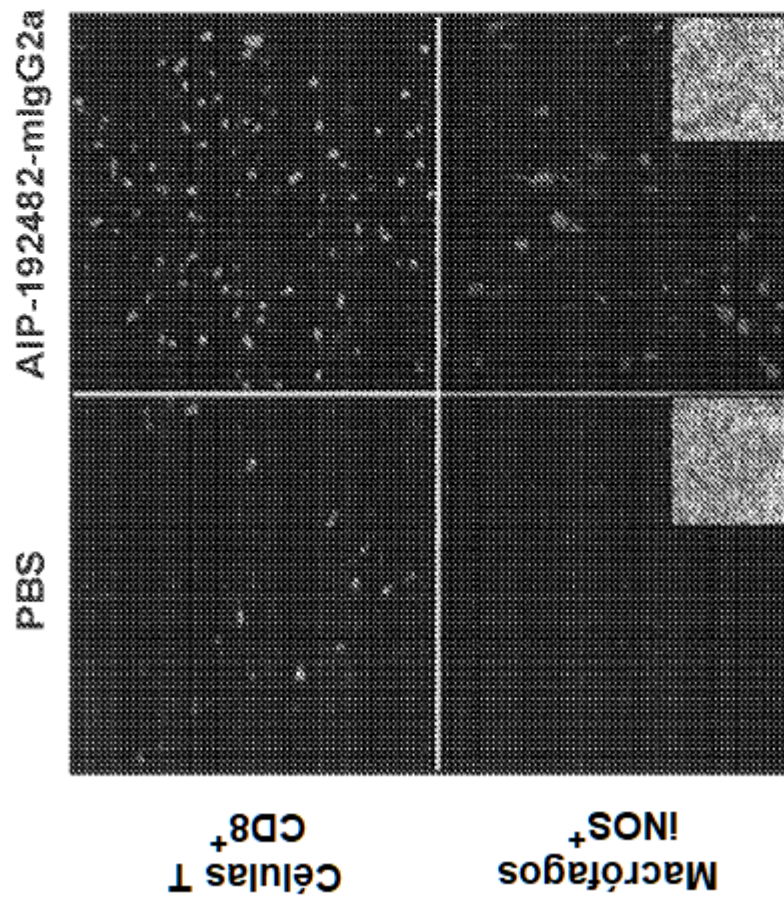


FIG. 62A

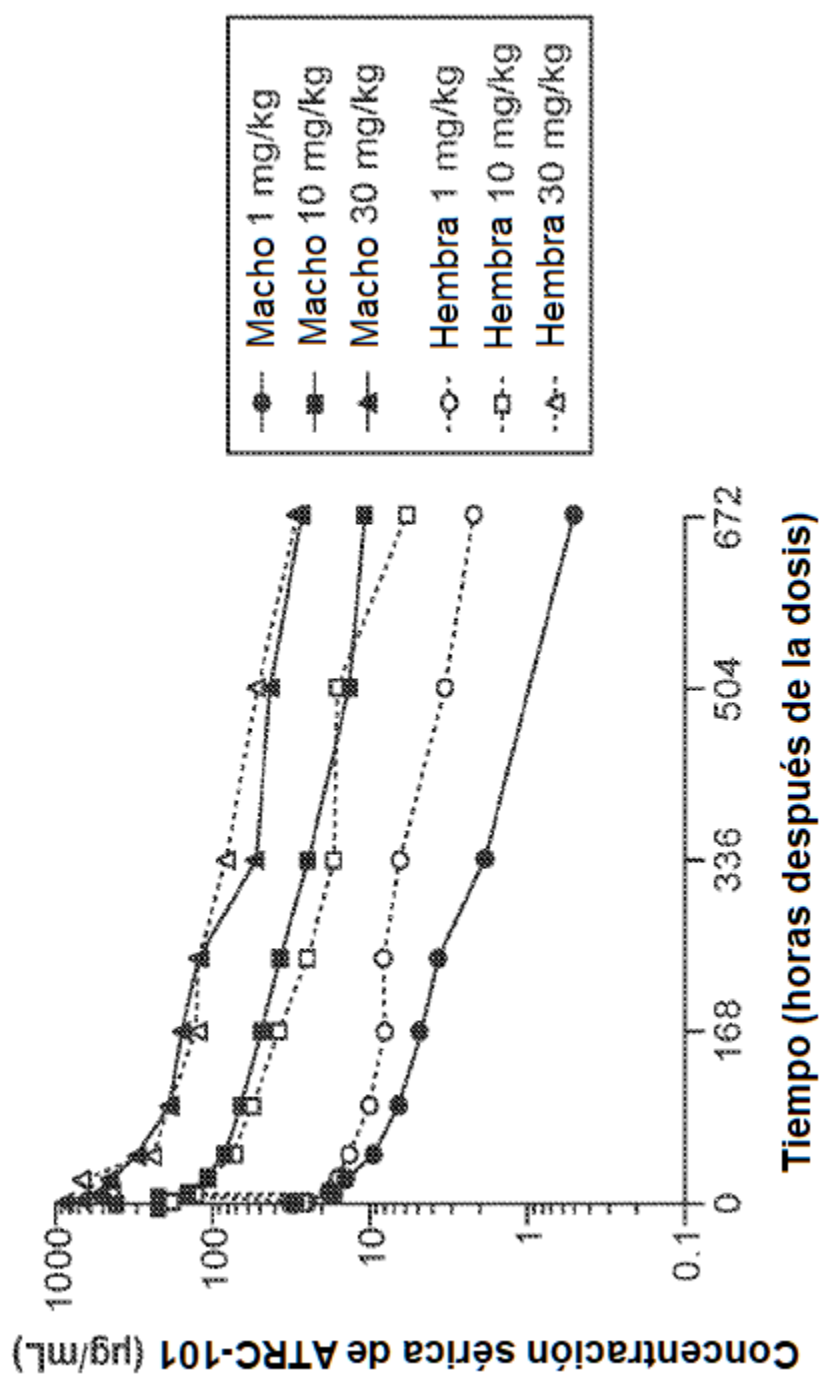
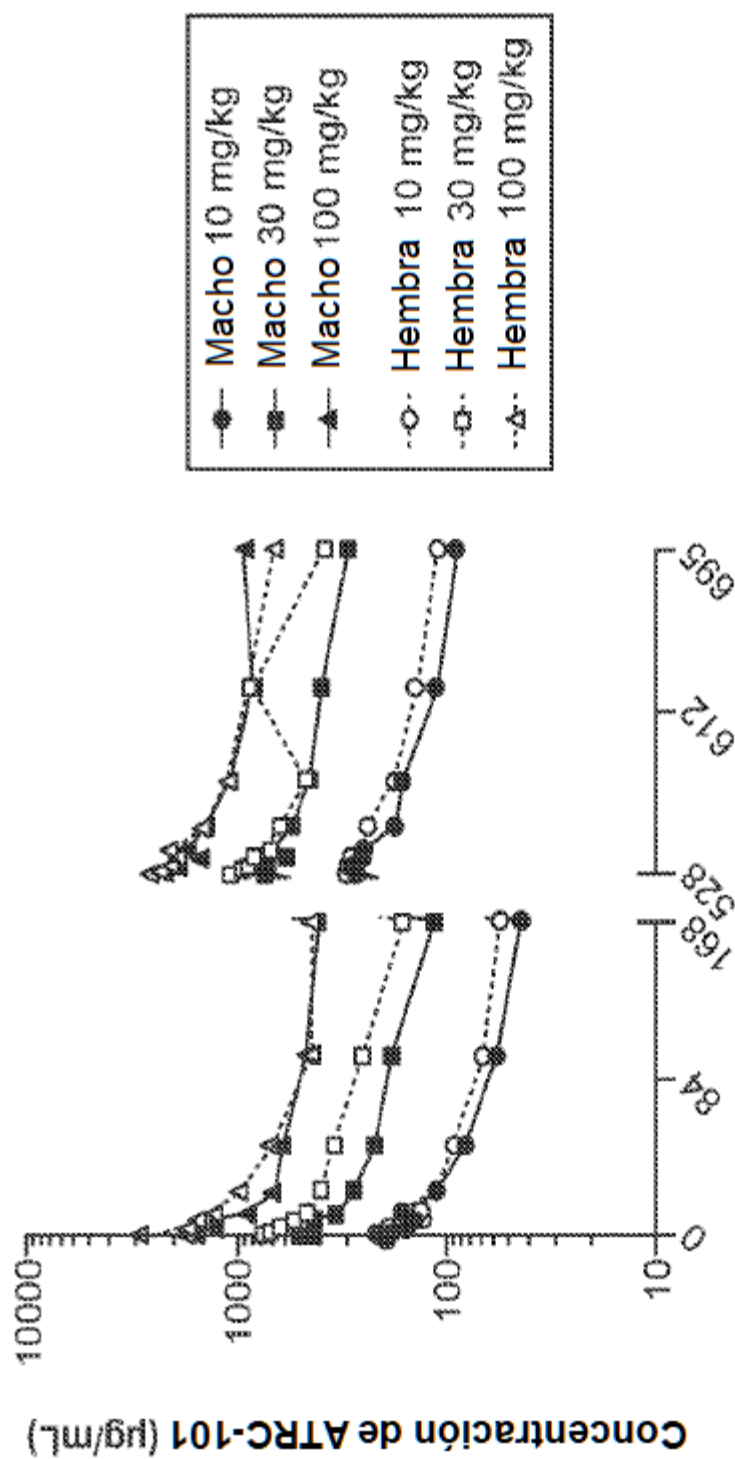


FIG. 63



Tiempo (horas después de la primera dosis)

FIG. 64