

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 987**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/55** (2006.01)

**C12N 15/26** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61K 47/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.02.2012 E 12702045 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2673294**

54 Título: **Polipéptidos interleuquina-2 mutantes**

30 Prioridad:

**10.02.2011 EP 11153964**

**29.04.2011 EP 11164237**

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

**18.08.2016**

73 Titular/es:

**ROCHE GLYCART AG (100.0%)**

**Wagistrasse 18**

**8952 Schlieren, CH**

72 Inventor/es:

**AST, OLIVER;**

**BRUENKER, PETER;**

**FREIMOSER-GRUNDSCHOBEN, ANNE;**

**HERTER, SYLVIA;**

**HOFER, THOMAS U.;**

**HOSSE, RALF;**

**KLEIN, CHRISTIAN;**

**MOESSNER, EKKEHARD;**

**NICOLINI, VALERIA G. y**

**UMANA, PABLO**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 579 987 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

Polipéptidos interleuquina-2 mutantes

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere de manera general a polipéptidos interleuquina-2 mutantes. Más particularmente, la invención se refiere a polipéptidos IL-2 mutantes que muestran propiedades mejoradas para la utilización como agentes inmunoterapéuticos. Asimismo, la invención se refiere a inmunoconjugados que comprenden dichos polipéptidos IL-2 mutantes, moléculas polinucleótidas codificantes de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados y vectores y células huésped que comprenden dichas moléculas polinucleótidas. La invención se refiere además a métodos para producir los polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2, a composiciones farmacéuticas que los comprenden, y a los usos de los mismos.

15 Antecedentes

La interleuquina 2 (IL-2), también conocida como factor de crecimiento de las células T (TCGF), es una glucoproteína globular de 15,5 kDa que desempeña un papel esencial en la generación, supervivencia y homeostasis de los linfocitos. Presenta una longitud de 133 aminoácidos y consiste de cuatro hélices  $\alpha$  anfipáticas antiparalelas que forman una estructura cuaternaria indispensable para su funcionamiento (Smith, Science 240:1169-76, 1988; Bazan, Science 257:410-413, 1992). Las secuencias de IL-2 procedente de diferentes especies se encuentran bajo los números de secuencia del NCBI siguientes: NP000577 (ser humano), NP032392 (ratón), NP446288 (rata) o NP517425 (chimpancé).

IL-2 media su acción mediante la unión a receptores de IL-2 (IL-2R), que consisten de hasta tres subunidades individuales, la diferente asociación de las cuales puede producir formas de receptor que difieren en su afinidad para IL-2. La asociación de las subunidades  $\alpha$  (CD25),  $\beta$  (CD122) y  $\gamma$  ( $\gamma_c$ , CD132) resulta en un receptor trimérico de alta afinidad para IL-2. El receptor dimérico de IL-2 que consiste de subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  se denomina IL-2R de afinidad intermedia. La subunidad  $\alpha$  forma el receptor de IL-2 monomérico de baja afinidad. Aunque el receptor de IL-2 dimérico de afinidad intermedia se une a IL-2 con una afinidad aproximadamente 100 veces inferior que el receptor trimérico de alta afinidad, tanto la variante dimérica como la trimérica de receptor de IL-2 puede transmitir señales tras la unión de IL-2 (Minami et al., Annu. Rev. Immunol. 11:245-268, 1993). Por lo tanto, la subunidad  $\alpha$ , CD25, no resulta esencial para la señalización de IL-2. Proporciona una unión de alta afinidad a su receptor, mientras que la subunidad  $\beta$ , CD122, y la subunidad  $\gamma$  resultan cruciales para la transducción de señales (Krieg et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 107:11906-11, 2010). Los receptores de IL-2 triméricos, incluyendo CD25, son expresados por células T reguladoras ( $T_{reg}$ ) de caja de cabeza de tenedor P3 (FoxP3)<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> (en reposo). También son inducidas transitoriamente en células T activadas convencionales, mientras que en el estado de reposo estas células expresan únicamente receptores de IL-2 diméricos. Las células Treg expresan consistentemente el nivel más alto de CD25 in vivo (Fontenot et al., Nature Immunol. 6:1142-51, 2005).

IL-2 se sintetiza principalmente en células T activadas, en particular células T ayudantes CD4<sup>+</sup>. Estimula la proliferación y diferenciación de las células T, induce la generación de linfocitos T citotóxicos (CTL) y la diferenciación de linfocitos sanguíneos periféricos en células citotóxicas y en células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), estimula la expresión de citoquinas y moléculas citolíticas por parte de las células T, facilita la proliferación y diferenciación de las células B y la síntesis de inmunoglobulinas por parte de las células B, y estimula la generación, proliferación y activación de células asesinas naturales (NK) (revisadas en, por ejemplo, Waldmann, Nat. Rev. Immunol. 6:595-601, 2009; Olejniczak y Kasprzak, Med. Sci. Monit. 14, RA179-89, 2008; Malek, Annu. Rev. Immunol. 26:453-79, 2008).

Su capacidad de expandir las poblaciones de linfocitos in vivo y de incrementar las funciones efectoras de estas células proporciona efectos antitumorales a IL-2, convirtiendo a la inmunoterapia de IL-2 en una opción de tratamiento atractiva para determinados cánceres metastásicos. En consecuencia, el tratamiento de dosis altas de IL-2 ha sido aprobado para su uso en pacientes con carcinoma de células renales metastásico y en el melanoma maligno.

Sin embargo, IL-2 presenta una doble función en la respuesta inmunológica, ya que no sólo media en la expansión y actividad de las células efectoras, sino que también es un participante crucial en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica periférica.

Un mecanismo importante subyacente a la autotolerancia periférica es la muerte celular inducida por activación por IL-2 en células T (AICD). La AICD es un proceso por el que las células T totalmente activadas experimentan una muerte celular programada tras la unión de receptores de muerte expresados en la superficie, tales como CD95 (también conocido como Fas) o el receptor de TNF. Al estimular nuevamente con antígeno a través del complejo de

receptor de células T (TCR)/CD3 células T activadas por antígeno y que expresan un receptor de IL-2 de alta afinidad (tras una exposición previa a IL-2), se induce la expresión de ligando Fas (FasL) y/o de factor de necrosis tumoral (TNF), haciendo que las células sean susceptibles a la apoptosis mediada por Fas. Este proceso depende de IL-2 (Lenardo, *Nature* 353:868-61, 1991) y se encuentra mediado por STAT5. Mediante el proceso de AICD en linfocitos T, no sólo puede establecerse tolerancia frente a los autoantígenos, sino también frente a antígenos persistentes que claramente no forman parte del huésped, tales como los antígenos tumorales.

Además, IL-2 también participa en el mantenimiento de las células T reguladoras (Treg) CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> periféricas (Fontenot et al., *Nature Immunol.* 6:1142-51, 2005; D'Cruz y Klein, *Nature Immunol.* 6:1152-59, 2005; Maloy y Powrie, *Nature Immunol.* 6:1171-72, 2005, que también se conocen como células T supresoras. Impiden que las células T efectoras destruyan su (auto)diana, a través del contacto célula-célula mediante inhibición de la ayuda y activación de las células T, o mediante la liberación de citoquinas inmunosupresoras, tales como IL-10 o TGF- $\beta$ . Se ha demostrado que la reducción del número de células T<sub>reg</sub> potencia la inmunidad antitumoral inducida por IL-2 (Imai et al., *Cancer Sci.* 98:416-23, 2007).

Por lo tanto, IL-2 no resulta óptimo para la inhibición del crecimiento tumoral debido a que, en presencia de IL-2, las CTL generados podrían reconocer el tumor como propio y experimentar AICD, o la respuesta inmunológica podría resultar inhibida por células T<sub>reg</sub> dependientes de IL-2.

Un problema adicional de la inmunoterapia de IL-2 son los efectos secundarios producidos por el tratamiento de IL-2 humana recombinante. Los pacientes que reciben un tratamiento de dosis altas de IL-2 frecuentemente experimentan sucesos adversos severos de tipo cardiovascular, pulmonar, renal, hepático, gastrointestinal, neurológico, cutáneo, hematológico y sistémico, requiriendo un seguimiento intensivo y control hospitalario. La mayoría de dichos efectos secundarios pueden explicarse por el desarrollo del denominado síndrome de fuga vascular (o capilar) (VLS), un incremento patológico de la permeabilidad vascular que conduce al extravasado de fluidos en múltiples órganos (provocando, por ejemplo, edema pulmonar y cutáneo y daños en las células hepáticas) y reducción de los fluidos intravasculares (lo que provoca una caída de la presión sanguínea y un incremento compensatorio de la frecuencia cardiaca). No existe ningún tratamiento para el VLS aparte de la retirada de la IL-2. Los regímenes de dosis bajas de IL-2 han sido sometidos a ensayo en pacientes a fin de evitar el VLS; sin embargo, a expensas de resultados terapéuticos subóptimos. Se cree que el VLS está provocado por la liberación de citoquinas proinflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF)  $\alpha$ , a partir de células NK activadas por IL-2; sin embargo, recientemente se ha demostrado que el edema pulmonar inducido por IL-2 resulta de la unión directa de IL-2 a las células endoteliales pulmonares, que expresan niveles bajos a moderados de receptores  $\alpha\beta$  de IL-2 funcionales (Krieg et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 107:11906-11, 2010).

Se han adoptado varios enfoques para superar dichos problemas asociados a la inmunoterapia de IL-2. Por ejemplo, se ha encontrado que la combinación de IL-2 con determinados anticuerpos monoclonales anti-IL-2 incrementa los efectos de tratamiento de IL-2 in vivo (Kamimura et al., *J. Immunol.* 177:306-14, 2006; Boyman et al., *Science* 311:1924-27, 2006). En un enfoque alternativo, se ha mutado IL-2 de diversos modos para reducir su toxicidad y/o para incrementar su eficacia. Hu et al. (*Blood* 101:4853-4861, 2003; publicación de patente US n° 2003/0124678) han sustituido el residuo arginina en posición 38 de IL-2 por triptófano para eliminar la actividad de vasopermeabilidad de IL-2. Shanafelt et al. (*Nature Biotechnol.* 18:1197-1202, 2000) han mutado la asparagina 88 en arginina para incrementar la selectividad para las células T sobre las células NK. Heaton et al. (*Cancer Res.* 53:2597-602, 1993; patente US n° 5.229.109) introdujeron dos mutaciones, Arg38Ala y Phe42Lys para reducir la secreción de citoquinas proinflamatorias a partir de células NK. Gillies et al. (publicación de patente US n° 2007/0036752) sustituyeron tres residuos de IL-2 (Asp2Thr, Asn88Arg y Gln126Asp) que contribuyen a la afinidad para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, para reducir el VLS. Gillies et al. (documento n° WO 2008/0034473) también mutaron la interfaz de IL-2 con CD25 mediante la sustitución de Arg38Trp y Phe42Lys para reducir la interacción con CD25 y la activación de las células T<sub>reg</sub> a fin de incrementar su eficacia. Con el mismo objetivo, Wittrup et al. (documento n° WO 2009/061853) produjeron mutantes de IL-2 que presentan una afinidad incrementada para CD25, pero que no activan el receptor, actuando de esta manera como antagonistas. Las mutaciones introducidas estaban destinadas a alterar la interacción con la subunidad  $\beta$  y/o del receptor.

Sin embargo, no se ha demostrado que ninguno de los mutantes de IL-2 conocidos supere la totalidad de los problemas anteriormente indicados que se asocian a la inmunoterapia con IL-2, es decir, la toxicidad provocada por la inducción de VLS, la tolerancia tumoral causada por la inducción de AICD y la inmunosupresión causada por la activación de las células T<sub>reg</sub>. De esta manera, sigue existiendo una necesidad en la técnica de mejorar adicionalmente la utilidad terapéutica de las proteínas IL-2.

#### 60 Descripción resumida de la invención

La presente invención se basa en parte en el reconocimiento de que la interacción entre IL-2 y la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 trimérico de alta afinidad es responsable de los problemas asociados a la inmunoterapia de IL-2.

La invención se refiere a los polipéptidos interleuquina-2 (IL-2) mutantes, inmunoconjugados, polinucleótidos, células huésped, métodos de producción de polipéptidos IL-2 mutantes y composiciones farmacéuticas.

- 5 [1] Un polipéptido interleuquina-2 (IL-2) mutante que comprende tres mutaciones de aminoácido que anulan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, cada uno en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido se encuentran en las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana (SEC ID nº 1 1).
- 10 [2] El polipéptido interleuquina-2 mutante de [1], en el que dichas tres mutaciones de aminoácido son sustituciones de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K.
- 15 [3] El polipéptido interleuquina-2 mutante de [1] o [2], en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido L72G.
- 20 [4] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [3], en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido F42A.
- 25 [5] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [4], en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido Y45A.
- [6] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [5], en el que dichas tres mutaciones de aminoácido son las mutaciones de aminoácido F42A, Y45A y L72G.
- 30 [7] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [6], que comprende además una mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana.
- 35 [8] El polipéptido interleuquina-2 mutante de [7], en el que dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K y T3P.
- 40 [9] El polipéptido interleuquina-2 mutante de [7] o [8], en el que dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido T3A.
- [10] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [9], en el que dicho polipéptido IL-2 mutante es una molécula de IL-2 humana.
- 45 [11] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [10], en el que dicho polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia SEC ID nº 19.
- [12] El polipéptido interleuquina-2 mutante de cualquiera de entre [1] a [11], en el que dicho polipéptido IL-2 mutante se encuentra unido a una fracción no IL-2.
- 50 [13] Un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante según cualquiera de entre [1] y [12] y una fracción de unión a antígeno.
- [14] El inmunoconjugado de [13], en el que dicha fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.
- 55 [15] El inmunoconjugado de [13], en el que dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv.
- 60 [16] El inmunoconjugado de [13], en el que dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina, particularmente una molécula de IgG.
- [17] El inmunoconjugado de cualquiera de entre [13] y [16], en el que dicha fracción de unión a antígeno presenta

como diana un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un medio de célula tumoral.

[18] Un polinucleótido aislado codificante del polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de cualquiera de entre [1] y [17].

[19] Una célula huésped que comprende el polinucleótido de [18].

[20] Un método para producir un polipéptido IL-2 mutante que comprende tres mutaciones de aminoácido que anulan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, cada uno en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido se encuentran en las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana (SEC ID nº 1) o un inmunoconjugado de los mismos, que comprende cultivar la célula huésped de [19] bajo condiciones adecuadas para la expresión del polipéptido IL-2 mutante o el inmunoconjugado.

[21] Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de cualquiera de entre [1] y [17] y un portador farmacéuticamente aceptable.

[22] El polipéptido IL-2 mutante o Inmunoconjugado de cualquiera de entre [1] y [17] para la utilización en el tratamiento de una enfermedad en un paciente en necesidad del mismo.

[23] El polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de [22] para la utilización en el tratamiento de una enfermedad, en el que dicha enfermedad es el cáncer.

La presente exposición proporciona un polipéptido interleuquina-2 (IL-2) mutante que comprende una primera mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, cada uno en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido se produce en una posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización más específica, dicha primera mutación de aminoácido es la sustitución de aminoácido L72G. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comprende una segunda mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición seleccionada de entre las posiciones correspondientes a los residuos 35, 38, 42, 43 y 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En una realización más específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R y F42K. En una realización todavía más específica, dicha segunda mutación de aminoácido es la sustitución de aminoácido F42A. En determinadas realizaciones, el polipéptido interleuquina-2 mutante comprende una tercera mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización particular, el polipéptido interleuquina-2 mutante comprende tres mutaciones de aminoácidos que anulan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje, en los que dichas tres mutaciones de aminoácidos se encuentran en posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dichas tres mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización específica, dichas tres mutaciones de aminoácidos son las sustituciones de aminoácidos F42A, Y45A y L72G. En determinadas realizaciones, el polipéptido interleuquina-2 mutante comprende además una mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K y T3P. En una realización específica, la mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es T3A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante es esencialmente una molécula de IL-2 de longitud completa, concretamente una molécula de IL-2 de longitud completa humana.

La exposición proporciona además un polipéptido interleuquina-2 mutante unido a una fracción no IL-2. En

determinadas realizaciones, dicha fracción no IL-2 es una fracción de dianización. En determinadas realizaciones, dicha fracción no IL-2 es una fracción de unión a antígeno. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno es un anticuerpo. En otra realización, dicha fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv. En una realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de scFv. En realizaciones particulares, el polipéptido IL-2 mutante se une a una primera y a una segunda fracciones no IL-2. En una de dichas realizaciones, el polipéptido interleuquina-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con dicha primera fracción no IL-2 y un enlace peptídico aminoterminal con dicha segunda fracción no IL-2. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina de clase IgG, concretamente de subclase IgG<sub>1</sub>. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, particularmente un antígeno seleccionado de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (ACE) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP).

La exposición proporciona además un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante tal como se indica en la presente memoria, y una fracción de unión a antígeno. En una realización del inmunoconjugado indicado en la presente memoria, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha fracción de unión a antígeno. En realizaciones particulares, el inmunoconjugado comprende una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno. En una de dichas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comprendido en el inmunoconjugado según la invención comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con una primera fracción de unión a antígeno, y una segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el polipéptido IL-2 mutante, o ii) dicha fracción de unión a antígeno. En una realización, la fracción de unión a antígeno comprendida en el inmunoconjugado según la invención es un anticuerpo, en otra realización dicha fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. En una realización específica, dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv. En una realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina de clase IgG, concretamente de subclase IgG<sub>1</sub>. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, particularmente un antígeno seleccionado de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (ACE) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP).

La exposición proporciona además polinucleótidos aislados codificantes de un polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se describe en la presente memoria, vectores de expresión que comprenden dichos polinucleótidos y células huésped que comprenden los polinucleótidos o los vectores de expresión.

Asimismo, se proporciona un método de producción de un polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se indica en la presente memoria, una composición farmacéutica que comprende un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado tal como se indica en la presente memoria y un portador farmacéuticamente aceptable, y métodos de utilización de un polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se indica en la presente memoria.

En particular, la invención comprende un polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se describe en la presente memoria para la utilización en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo. En una realización particular dicha enfermedad es el cáncer. En una realización particular, el individuo es un ser humano..

La exposición se refiere además a la utilización del polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado tal como se indica en la presente memoria para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una enfermedad en un individuo que lo necesita..

Asimismo, la exposición se refiere al tratamiento de una enfermedad en un individuo, que comprende administrar en dicho individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado tal como se indica en la presente memoria. Dicha enfermedad preferentemente es el cáncer.

Asimismo, la exposición se refiere a la estimulación del sistema inmunológico en un individuo, que comprende administrar en dicho individuo una cantidad eficaz de una composición que comprende el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado indicado en la presente memoria, en una forma farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de la invenciónDefiniciones

5 Los términos se utilizan en la presente memoria tal como se utilizan generalmente en la técnica, a menos que se defina de otra manera a continuación.

10 El término "interleuquina-2" o "IL-2" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier IL-2 nativa procedente de cualquier origen vertebrado, incluyendo mamíferos tales como primates (por ejemplo seres humanos) y roedores (por ejemplo ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. La expresión comprende IL-2 no procesada, así como cualquier forma de IL-2 que resulte del procesamiento dentro de la célula. La expresión también comprende variantes naturales de IL-2, por ejemplo variantes de procesamiento o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de una secuencia ejemplar de la IL-2 humana se muestra en SEC ID n° 1. La IL-2 humana no procesada comprende además un péptido de señal N-terminal de 20 aminoácidos que presenta la secuencia de SEC ID n° 272, que se encuentra ausente en la molécula de IL-2 madura.

15 La expresión "IL-2 mutante" o "polipéptido IL-2 mutante" tal como se utiliza en la presente memoria pretende comprender cualquier forma mutante de diversas formas de la molécula de IL-2, incluyendo la IL-2 de longitud completa, formas truncadas de IL-2 y formas en las que IL-2 se encuentra unida a otra molécula, tal como mediante fusión o conjugación química. La expresión "longitud completa" utilizada en referencia a IL-2 pretende referirse a la molécula de IL-2 madura de longitud completa. Por ejemplo, la IL-2 humana de longitud completa se refiere a una molécula que presenta 133 aminoácidos (ver, por ejemplo, la SEC ID n° 1). Las diversas formas de mutantes de IL-2 se caracterizan porque presentan por lo menos una mutación de aminoácidos que afecta a la interacción de IL-2 con CD25. Esta mutación puede implicar la sustitución, delección, truncado o modificación del residuo aminoácido de tipo salvaje localizado normalmente en dicha posición. Los mutantes obtenidos mediante sustitución de aminoácidos resultan preferentes. A menos que se indique lo contrario, una IL-2 mutante puede denominarse en la presente memoria como una secuencia peptídica mutante de IL-2, un polipéptido IL-2 mutante, una proteína IL-2 mutante o un análogo de mutante de IL-2.

20 La denominación de las diversas formas de IL-2 en la presente memoria se realiza respecto a la secuencia mostrada en SEC ID n° 1. En la presente memoria pueden utilizarse diversas denominaciones para indicar la misma mutación. Por ejemplo, una mutación de fenilalanina en la posición 42 a alanina puede indicarse como 42A, A42, A<sub>42</sub>, F42A o Phe42Ala.

25 La expresión "mutación de aminoácido" tal como se utiliza en la presente memoria pretende comprender sustituciones, delecciones, inserciones y modificaciones de aminoácidos. Puede realizarse cualquier combinación de sustitución, delección, inserción y modificación para alcanzar el constructo final, con la condición de que el constructo final presente las características deseadas, por ejemplo una capacidad reducida de unión a CD25. Entre las delecciones e inserciones de secuencias de aminoácidos se incluyen las delecciones e inserciones aminotermiales y/o carboxiterniales de aminoácidos. Un ejemplo de una delección terminal es la delección del residuo alanina en la posición 1 de la IL-2 humana de longitud completa. Son mutaciones de aminoácidos preferentes las sustituciones de aminoácidos. Con el propósito de alterar, por ejemplo, las características de unión de un polipéptido IL-2, resultan particularmente preferentes las sustituciones no conservadoras de aminoácidos, es decir, la sustitución de un aminoácido por otro aminoácido que presenta diferentes propiedades estructurales y/o químicas. Entre las sustituciones de aminoácidos preferentes se incluyen la sustitución de un aminoácido hidrofóbico por uno hidrofílico. Entre las sustituciones de aminoácidos se incluyen la sustitución por aminoácidos no naturales o por derivados de aminoácidos naturales de los veinte aminoácidos estándares (por ejemplo 4-hidroxi-prolina, 3-metilhistidina, ornitina, homoserina, 5-hidroxisilina). Pueden generarse mutaciones de aminoácidos mediante métodos genéticos o químicos bien conocidos de la técnica. Entre los métodos genéticos pueden incluirse la mutagénesis sitio-dirigida, la PCR, la síntesis génica y similares. Se contempla que también puedan resultar útiles métodos de alteración del grupo de cadena lateral de un aminoácido mediante métodos aparte de la ingeniería genética, tales como la modificación química.

30 Tal como se utiliza en la presente memoria, una forma "de tipo salvaje" de IL-2 es una forma de IL-2 que de otro modo es igual al polipéptido IL-2 mutante excepto en que la forma de tipo salvaje presenta un aminoácido de tipo salvaje en cada posición aminoácida del polipéptido IL-2 mutante. Por ejemplo, en el caso de que la IL-2 mutante sea la IL-2 de longitud completa (es decir, IL-2 no fusionada o conjugada con cualquier otra molécula), la forma de tipo salvaje de este mutante es IL-2 nativa de longitud completa. En el caso de que la IL-2 mutante sea una fusión entre IL-2 y otro polipéptido codificado cadena abajo de IL-2 (por ejemplo una cadena de anticuerpo), la forma de tipo salvaje de esta IL-2 mutante es IL-2 con una secuencia de aminoácidos de tipo salvaje fusionada con el mismo polipéptido de cadena abajo. Además, en el caso de que la IL-2 mutante sea una forma truncada de IL-2 (la secuencia mutada o modificada se encuentra dentro de la parte no truncada de IL-2, la forma de tipo salvaje de esta

IL-2 mutante de manera similar es una IL-2 truncada que presenta una secuencia de tipo salvaje. Con el fin de comparar la afinidad de unión de los receptores de IL-2 o la actividad biológica de diversas formas mutantes de IL-2 con la forma de IL-2 de tipo salvaje correspondiente, la expresión "tipo salvaje" comprende formas de IL-2 que incluyen una o más mutaciones de aminoácidos que no afectan a la unión del receptor de IL-2 en comparación con la IL-2 nativa natural, tales como, por ejemplo, la sustitución de la cisteína en una posición correspondiente al residuo 125 de la IL-2 humana por alanina. En algunas realizaciones, la IL-2 de tipo salvaje para el propósito de la presente invención comprende la sustitución de aminoácido C125A (ver SEC ID nº 3). En determinadas realizaciones según la invención, el polipéptido IL-2 de tipo salvaje con el que se compara el polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 1. En otras realizaciones, el polipéptido IL-2 de tipo salvaje con el que se compara el polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 3.

El término "CD25" o "subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier CD25 nativo procedente de cualquier origen vertebrado, incluyendo mamíferos tales como primates (por ejemplo seres humanos) y roedores (por ejemplo ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. La expresión comprende CD25 de "longitud completa" no procesado, así como cualquier forma de CD25 que resulte del procesamiento dentro de la célula. La expresión también comprende variantes naturales de CD25, por ejemplo variantes de procesamiento o variantes alélicas. En determinadas realizaciones, CD25 es CD25 humano. La secuencia de aminoácidos de un CD25 humano ejemplar (con secuencia de señal, etiqueta Avi y etiqueta His) se muestra en SEC ID nº 278.

La expresión "receptor de IL-2 de alta afinidad" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la forma heterotrimérica del receptor de IL-2, que consiste de la subunidad  $\gamma$  del receptor (también conocida como subunidad  $\gamma$  común del receptor de citoquina, y c o CD132), la subunidad  $\beta$  del receptor (también conocida como CD122 ó p70) y la subunidad  $\alpha$  del receptor (también conocida como CD25 ó p55). La expresión "receptor de IL-2 de afinidad intermedia" en contraste se refiere al receptor de IL-2 que incluye únicamente la subunidad  $\gamma$  y la subunidad  $\beta$ , sin la subunidad  $\alpha$  (para una revisión ver, por ejemplo, Olejniczak y Kasprzak, Med. Sci. Monit. 14:RA179-189, 2008).

El término "afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo un receptor) y su pareja de unión (por ejemplo un ligando). A menos que se indique lo contrario, tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de una pareja de unión (por ejemplo un receptor y un ligando). La afinidad de una molécula X para su pareja Y puede representarse de manera general a partir de la constante de disociación ( $K_D$ ), que es la proporción entre las constantes de tasa de disociación y de asociación ( $k_{off}$  y  $k_{on}$ , respectivamente). De esta manera, las afinidades equivalentes pueden comprender diferentes constantes de tasa, con la condición de que la proporción entre las constantes de tasa no varíe. Puede medirse la afinidad mediante métodos bien establecidos conocidos de la técnica, incluyendo los descritos en la presente memoria.

La afinidad del polipéptido IL-2 mutante o de tipo salvaje para diversas formas del receptor de IL-2 puede determinarse según el método indicado en los Ejemplos mediante resonancia de plasmón superficial (SPR), utilizando instrumentación estándar, tal como un instrumento BIAcore (GE Healthcare) y subunidades de receptor, tales como las que pueden obtenerse mediante expresión recombinante (ver, por ejemplo, Shanafelt et al., Nature Biotechnol. 18:1197-1202, 2000). Alternativamente, la afinidad de unión de IL-2 mutantes para diferentes formas del receptor de IL-2 puede evaluarse utilizando líneas celulares que es conocido que expresan una u otra de dichas formas del receptor. A continuación se describen realizaciones ilustrativas y ejemplares específicas para medir la afinidad de unión.

La expresión "célula T reguladora" o "célula  $T_{reg}$ " se refiere a un tipo especializado de células T  $CD4^+$  que puede suprimir las respuestas de otras células T. Las células  $T_{reg}$  se caracterizan por la expresión de la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (CD25) y el factor de transcripción P3 de caja de cabeza de tenedor (FOXP3) (Sakaguchi, Annu. Rev. Immunol. 22:531-62, 2004) y desempeñan un papel crítico en la inducción y mantenimiento de la autotolerancia periférica a antígenos, incluyendo los expresados por tumores. Las células  $T_{reg}$  requieren IL-2 para su funcionamiento y desarrollo, además de la inducción de sus características supresoras.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "células efectoras" se refiere a una población de linfocitos que media en los efectos citotóxicos de IL-2. Entre las células efectoras se incluyen las células T efectoras, tales como las células T citotóxicas  $CD8^+$ , las células NK, las células asesinas activadas por linfocinas (LAK) y los macrófagos/monocitos.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "fracción de unión a antígeno" se refiere a una molécula de polipéptido que se une específicamente a un determinante antigénico. En una realización, una fracción de unión a antígeno es capaz de dirigir la entidad a la que se encuentra unida (por ejemplo una citoquina o una segunda fracción de unión a antígeno) a un sitio diana, por ejemplo a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral



que porta el determinante antigénico. Entre las fracciones de unión a antígeno se incluyen anticuerpos y fragmentos de los mismos, tal como se define adicionalmente en la presente memoria. Entre las fracciones de unión a antígeno preferentes se incluyen un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprende una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. En determinadas realizaciones, las fracciones de unión a antígeno pueden comprender regiones constantes de anticuerpo definidas adicionalmente en la presente memoria y conocidas de la técnica. Entre las regiones constantes de cadena pesada que resultan útiles se incluyen cualquiera de los cinco isotipos:  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  ó  $\mu$ . Entre las regiones constantes de cadena ligera que resultan útiles se incluyen cualquiera de los dos isotipos:  $\kappa$  y  $\lambda$ .

La expresión "se une específicamente" se refiere a que la unión es selectiva para el antígeno y puede discriminarse de interacciones no deseadas o no específicas. La capacidad de la fracción de unión a antígeno de unirse a un determinante antigénico específico puede medirse mediante un ensayo de inmunosorción ligada a enzima (ELISA) u otras técnicas que resultarán familiares al experto en la materia, por ejemplo la técnica de resonancia del plasmón superficial (analizada en un instrumento BIAcore) (Liljebblad et al., *Glyco. J.* 17:323-329, 2000) y ensayos de unión tradicionales (Heeley R.P., *Endocr. Res.* 28:217-229, 2002).

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "determinante antigénico" es sinónima de "antígeno" y "epítipo", y se refiere a un sitio (por ejemplo un tramo contiguo de aminoácidos o una configuración conformacional constituida de diferentes regiones de aminoácidos no contiguos) en una macromolécula polipeptídica a la que se une una fracción de unión a antígeno, formando un complejo de fracción de unión a antígeno-antígeno. Pueden encontrarse determinantes antigénicos útiles, por ejemplo sobre las superficies de las células tumorales, sobre las superficies de las células infectadas por virus, sobre las superficies de otras células enfermas, circulantes en el suero sanguíneo y/o en la matriz extracelular (ECM).

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "polipéptido" se refiere a una molécula compuesta de monómeros (aminoácidos) unidos linealmente mediante enlaces amídicos (también conocidos como enlaces peptídicos). El término "polipéptido" se refiere a cualquier cadena de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. De esta manera, dentro de la definición de "polipéptido" se incluyen péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, "proteína", "cadena de aminoácidos" o cualquier otra expresión utilizada para referirse a una cadena de dos o más aminoácidos, y el término "polipéptido" puede utilizarse en lugar de, o intercambiamente con, cualquiera de dichos términos. El término "polipéptido" también pretende referirse a los productos de las modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, incluyendo, aunque sin limitación, la glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización con grupos protectores/bloqueantes, corte proteolítico o modificación con aminoácidos naturales. Puede derivarse un polipéptido de una fuente biológica natural o producirse mediante tecnología recombinante, aunque no se traduce necesariamente a partir de una secuencia de ácidos nucleicos designada. Puede generarse de cualquier manera, incluyendo mediante síntesis química. Un polipéptido de la invención puede presentar un tamaño de aproximadamente 3 ó más, 5 ó más, 10 ó más, 20 ó más, 25 ó más, 50 ó más, 75 ó más, 100 ó más, 200 ó más, 500 ó más, 1.000 ó más, ó 2.000 ó más aminoácidos. Los polipéptidos pueden presentar una estructura tridimensional definida, aunque no presentan necesariamente dicha estructura. Se hace referencia a los polipéptidos con una estructura tridimensional definida como plegados, y a los polipéptidos que no presentan una estructura tridimensional definida, sino que pueden adoptar un gran número de conformaciones diferentes, como no plegados.

Un polipéptido o variante del mismo "aislado", o derivado del mismo, pretende referirse a un polipéptido que no se encuentra en su ambiente natural. No resulta necesario un nivel particular de purificación. Por ejemplo, puede extraerse un polipéptido aislado de su ambiente nativo o natural. Los polipéptidos producidos recombinantemente y las proteínas expresadas en células huésped se consideran aislados para los fines de la invención, al igual que los polipéptidos nativos o recombinantes que han sido separados, fraccionados o parcial o sustancialmente purificados mediante cualquier técnica adecuada.

Se define "porcentaje (%) de identidad de secuencias de aminoácidos" con respecto a un polipéptido de referencia como el porcentaje de residuos aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos aminoácidos en la secuencia polipeptídica de referencia tras la alineación de las secuencias y la introducción de huecos, en caso necesario, para alcanzar el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y no considerando ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencias. La alineación con fines de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede conseguirse de diversas maneras que se encuentran comprendidas dentro de los conocimientos del experto en la materia, por ejemplo utilizando programas informáticos disponibles públicamente, tales como BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (ADNSTAR). El experto en la materia podrá determinar los parámetros apropiados para alinear las secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para alcanzar la alineación máxima a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se comparan. Para los fines de la presente memoria, sin embargo, los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos se generan utilizando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El autor del programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2 es Genentech, Inc., y el código fuente ha sido presentado conjuntamente con

la documentación para usuario en el U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559, en donde se ha registrado bajo el nº de registro U.S. Copyright TXU510087. El programa ALIGN-2 se encuentra disponible públicamente de Genentech, Inc., South San Francisco, California, o puede compilarse a partir del código fuente. El programa ALIGN-2 debería compilarse para la utilización en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Todos los parámetros de comparación de secuencias son fijados por el programa ALIGN-2 y no varían. En los casos en que se utiliza ALIGN-2 para las comparaciones entre secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos dada A respecto a una secuencia de aminoácidos dada B (que alternativamente puede expresarse como una secuencia de aminoácidos dada A que presenta o comprende un determinado % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto a una secuencia de aminoácidos dada B) se calcula de la manera siguiente:

$$100 \text{ veces la fracción } X/Y$$

en la que X es el número de residuos aminoácidos puntuado como correspondencias idénticas por el programa de alineación de secuencias ALIGN-2 en la alineación del programa de A y B, y en el que Y es el número total de residuos aminoácidos de B. Se apreciará que, en el caso de que la longitud de la secuencia de aminoácidos A no sea igual a la longitud de la secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de la secuencia de aminoácidos de A respecto a B no será igual al % de identidad de secuencia de aminoácidos de B respecto a A. A menos que se indique específicamente lo contrario, todos los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos utilizados en la presente memoria se obtienen tal como se describe en el párrafo inmediatamente anterior utilizando el programa informático ALIGN-2.

El término "polinucleótido" se refiere a una molécula o constructo aislado de ácidos nucleicos, por ejemplo un ARN mensajero (ARNm), ARN derivado de virus o ADN de plásmido (ADNp). Un polinucleótido puede comprender un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo un enlace amida, tal como el presente en los ácidos péptido nucleicos (APN). La expresión "molécula de ácidos nucleicos" se refiere a uno o más segmentos de ácido nucleico cualesquiera, por ejemplo fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucleótido.

El término "aislado" referido a una molécula de ácido nucleico o polinucleótido se refiere a una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN, que ha sido extraída de su ambiente nativo. Por ejemplo, un polinucleótido recombinante codificante de un polipéptido terapéutico contenido en un vector se considera aislado para los fines de la presente invención. Entre los ejemplos adicionales de un polinucleótido aislado se incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células huésped heterólogas o polinucleótidos purificados (parcial o sustancialmente) en solución. Un polinucleótido aislado incluye una molécula polinucleótida contenida en células que habitualmente contienen la molécula polinucleótida, aunque la molécula polinucleótida se encuentre presente extracromosómicamente o en una localización cromosómica que sea diferente de su localización cromosómica natural. Entre las moléculas de ARN aisladas se incluyen los transcritos de ARN in vivo o in vitro de la presente invención, así como formas de cadena positiva y negativa y formas de doble cadena. Entre los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados según la presente invención se incluyen además dichas moléculas producidas sintéticamente. Además, un polinucleótido o ácido nucleico puede ser, o puede incluir, un elemento regulador tal como un promotor, un sitio de unión ribosómica o un terminador de transcripción.

La referencia a un ácido nucleico o polinucleótido que presenta una secuencia de nucleótidos por lo menos, por ejemplo, 95% "idéntica" a una secuencia de nucleótidos de referencia de la presente invención, se pretende decir que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido es idéntica a la secuencia de referencia, excepto en que la secuencia polinucleótida puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, para obtener un polinucleótido que presente una secuencia de nucleótidos por lo menos 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia pueden delecionarse o sustituirse por otro nucleótido, o puede insertarse en la secuencia de referencia un grupo de nucleótidos de hasta 5% de los nucleótidos totales de la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones 5' ó 3' terminales de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier sitio entre dichas posiciones terminales, entremezcladas individualmente entre residuos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. En la práctica, puede determinarse si alguna secuencia polinucleótida particular es idéntica por lo menos al 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% a una secuencia de nucleótidos de la presente invención convencionalmente mediante la utilización de programas informáticos conocidos, tales como los indicados anteriormente para los polipéptidos (por ejemplo ALIGN-2).

La expresión "casete de expresión" se refiere a un polinucleótido generado recombinantemente o sintéticamente con una serie de elementos ácidos nucleicos especificados que permiten la transcripción de un ácido nucleico particular en una célula diana. El casete de expresión recombinante puede incorporarse en un plásmido, cromosoma, ADN mitocondrial, ADN de plásmido, virus o fragmento de ácido nucleico. Típicamente, la parte de casete de expresión recombinante de un vector de expresión incluye, entre otras secuencias, una secuencia de ácidos nucleicos que

debe transcribirse y un promotor. En determinadas realizaciones, el casete de expresión de la invención comprende secuencias polinucleótidas que codifican polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2 de la invención o fragmentos de los mismos.

5 El término "vector" o "vector de expresión" es sinónimo de "constructo de expresión" y se refiere a una molécula de ADN que se utiliza para introducir y dirigir la expresión de un gen específico al que se encuentra operablemente asociado en una célula diana. El término incluye el vector en forma de una estructura autorreplicante de ácidos nucleicos, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que ha sido introducido. El vector de expresión de la presente invención comprende un casete de expresión. Los vectores de expresión permiten la transcripción de grandes cantidades de ARNm estable. Tras entrar el vector de expresión en la célula diana, la molécula de ácido ribonucleico o proteína que se encuentra codificada por el gen es producido por la maquinaria celular de transcripción y/o traducción. En una realización, el vector de expresión de la invención comprende un casete de expresión que comprende secuencias polinucleótidas que codifican polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2 de la invención o fragmentos de los mismos.

15 El término "artificial" se refiere a una composición sintética o no derivada de la célula huésped, por ejemplo un oligonucleótido de síntesis química.

20 Las expresiones "célula huésped", "línea celular huésped" y "cultivo de células huésped" se utilizan intercambiamente y se refieren a células en las que se han introducido ácidos nucleicos exógenos, incluyendo la progenie de dichas células. Entre las células huésped se incluyen "transformantes" y "células transformadas", incluyendo la célula transformada primaria y la progenie derivada de la misma con independencia del número de pases. La progenie puede no ser completamente idéntica en contenido de ácidos nucleicos a una célula parental, sino que puede contener mutaciones. Se encuentra incluida en la presente memoria la progenie mutante que presenta la misma función o actividad biológica para la que se ha realizado el cribado o selección en la célula originalmente transformada.

25 El término "anticuerpo" en la presente memoria se utiliza en el sentido más amplio y comprende diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo, aunque sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos, con la condición de que muestren la actividad de unión a antígeno deseada.

30 La expresión "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se utilizan en la presente memoria intercambiamente para referirse a un anticuerpo que presenta una estructura sustancialmente similar a una estructura nativa de anticuerpo o que presenta cadenas pesadas que contienen una región Fc tal como se define en la presente memoria.

35 Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula diferente de un anticuerpo intacto, que comprende una parte de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Entre los ejemplos de fragmentos de anticuerpo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla (por ejemplo scFv) y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. Para una revisión de determinados fragmentos de anticuerpo, ver Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134, 2003. Para una revisión de los fragmentos scFv, ver, por ejemplo, Plückerthun, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore (editores), Springer-Verlag, New York, páginas 269 a 315, 1994; ver también el documento n° WO 93/16185, y las patentes US n° 5.571.894 y n° 5.587.458. Para un comentario de los fragmentos Fab y F(ab')<sub>2</sub> que comprenden residuos de epítipo ligante de receptor de reciclaje y que presentan una vida media incrementada, ver la patente US n° 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Ver, por ejemplo, la patente n° EP 404.097, el documento n° WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134, 2003, y Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993. Los triacuerpos y tetracuerpos también se describen en Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134, 2003. Los fragmentos de anticuerpo pueden prepararse mediante diversas técnicas, incluyendo, aunque sin limitación, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción por parte de células huésped recombinantes (por ejemplo *E. coli* o fagos), tal como se describe en la presente memoria.

55 La expresión "molécula de inmunoglobulina" se refiere a una proteína que presenta la estructura de un anticuerpo de origen natural. Por ejemplo, las inmunoglobulinas de la clase IgG son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 daltons, compuestas de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que se encuentran unidas mediante enlaces disulfuro. De extremo N-terminal a extremo C-terminal, cada cadena pesada presenta una región variable (VH), también denominada dominio pesado variable o una región variable de cadena pesada, seguido de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3), también denominado región constante de cadena pesada. De manera similar, de extremo N-terminal a extremo C-terminal, cada cadena ligera presenta una región variable (VL), también denominada dominio ligero variable o dominio variable de cadena ligera, seguido de un dominio ligero

constante (CL), también denominado región constante de cadena ligera. La cadena pesada de una inmunoglobulina puede asignarse a cinco tipos, denominados  $\alpha$  (IgA),  $\delta$  (IgD),  $\epsilon$  (IgE),  $\gamma$  (IgG) o  $\mu$  (IgM), algunos de los cuales puede dividirse adicionalmente en subtipos, por ejemplo  $\gamma_1$  (IgG<sub>1</sub>),  $\gamma_2$  (IgG<sub>2</sub>),  $\gamma_3$  (IgG<sub>3</sub>),  $\gamma_4$  (IgG<sub>4</sub>),  $\alpha_1$  (IgA<sub>1</sub>) y  $\alpha_2$  (IgA<sub>2</sub>). La cadena ligera de una inmunoglobulina puede asignarse a uno de entre dos tipos, denominados kappa ( $\kappa$ ) y lambda ( $\lambda$ ), basándose en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante. Una inmunoglobulina consiste esencialmente de dos moléculas de Fab y un dominio Fc, unidos mediante la región bisagra de inmunoglobulina.

La expresión "dominio de unión a antígeno" se refiere a la parte de un anticuerpo que comprende el área que se une específicamente y es complementaria a parte o la totalidad de un antígeno. Puede proporcionarse un dominio de unión a antígeno mediante, por ejemplo, uno o más dominios variables de anticuerpo (también denominados regiones variables de anticuerpo). Preferentemente, el dominio de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo y una región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo.

La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que participa en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y de la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo generalmente presentan estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones marco (FRs) conservadas y tres regiones hipervariables (HVR) Ver, por ejemplo, Kindt et al., Kuby Immunology, 6a ed., W.H. Freeman and Co., página 91, 2007. Puede resultar suficiente un único dominio VH o VL para proporcionar especificidad de unión de antígeno.

La expresión "región hipervariable", o "RHV", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en secuencia y/o forman bucles estructuralmente definidos ("bucles hipervariables"). Generalmente, los anticuerpos de cuatro cadenas nativos comprenden seis RHV, tres en la VH (H1, H2 y H3) y tres en la VL (L1, L2 y L3). Las HVR generalmente comprenden residuos aminoácidos de los bucles hipervariables y/o de las "regiones determinantes de complementariedad" (RDC), presentando éstas últimas una variabilidad de secuencia más alta y/o participando en el reconocimiento de antígeno. Con la excepción de la RDC1 en VH, las RDC generalmente comprenden los residuos aminoácidos que forman los bucles hipervariables. Las regiones hipervariables (RHV) también se denominan "regiones determinantes de complementariedad" (RDC) y estas expresiones se utilizan intercambiabilmente en la presente memoria en referencia a partes de la región variable que forman las regiones de unión a antígeno. Esta región particular ha sido descrita por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 1983, y por Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987, en las que las definiciones incluyen residuos aminoácidos solapantes o subconjuntos de residuos aminoácidos al compararlas entre sí. Sin embargo, la aplicación de cualquiera de las definiciones para referirse a una CDR de un anticuerpo o variantes de la misma pretende encontrarse comprendida dentro del alcance de la expresión según se define y se utiliza en la presente memoria. Los residuos aminoácidos apropiados que comprenden las RDC tal como se definen en cada una de las referencias citadas se proporcionan a continuación, en la Tabla 1, a modo comparativo. El número exacto de residuos que comprende una CDR particular varía dependiendo de la secuencia y tamaño de la CDR. El experto en la materia podrá determinar rutinariamente qué residuos comprende una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

TABLA 1. Definiciones de RDC<sup>1</sup>

CDR	Kabat	Chothia	AbM <sup>2</sup>
V <sub>H</sub> RDC1	31-35	26-32	26-35
V <sub>H</sub> RDC2	50-65	52-58	50-58
V <sub>H</sub> RDC3	95-102	95-102	95-102

CDR	Kabat	Chothia	AbM <sup>2</sup>
V <sub>L</sub> RDC1	24-34	26-32	24-34
V <sub>L</sub> RDC2	50-56	50-52	50-56
V <sub>L</sub> RDC3	89-97	91-96	89-97

<sup>1</sup>La numeración de todas las definiciones de CDR en la Tabla 1 sigue las convenciones de numeración proporcionadas por Kabat et al. (ver posteriormente).

<sup>2</sup>"AbM" con una "b" minúscula, tal como se utiliza en la Tabla 1, se refiere a las CDR según la definición del programa informático de modelaje de anticuerpos "AbM" de Oxford Molecular.

Kabat et al. también han definido un sistema de numeración para las secuencias de región variable que resulta aplicable a cualquier anticuerpo. El experto ordinario en la materia podrá asignar inequívocamente este sistema de "numeración de Kabat" a cualquier secuencia de dominio variable sin basarse en ningún dato experimental más allá de la secuencia misma. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "numeración de Kabat" se refiere al sistema de numeración proporcionado por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 1983. A menos que se indique lo contrario, las referencias a la numeración de

posiciones específicas de residuos aminoácidos en una región variable de anticuerpo siguen el sistema de numeración de Kabat.

5 Las secuencias polipeptídicas del listado de secuencias (es decir, SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, etc.) no se encuentran numeradas siguiendo el sistema de numeración de Kabat. Sin embargo, se encuentra perfectamente comprendido dentro de los conocimientos del experto ordinario en la materia convertir la numeración de las secuencias del listado de secuencias a la numeración de Kabat.

10 El término "marco" o "FR" se refiere a residuos de dominio variable diferentes de los residuos de la región hipervariable (RHV). La FR de un dominio variable generalmente consiste de cuatro dominios FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. De acuerdo con lo anterior, las secuencias de RHV y FR generalmente aparecen en la secuencia siguiente en VH (o en VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

15 La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante que presenta su cadena pesada. Existen cinco clases principales de anticuerpo: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y algunas de ellas pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  y  $\mu$ , respectivamente.

20 La expresión "región Fc" en la presente memoria se utiliza para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene por lo menos parte de la región constante. La expresión incluye las regiones de Fc de secuencia nativa y las regiones de Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de IgG pueden variar ligeramente, la región Fc de cadena pesada de IgG humana habitualmente se define que se extiende desde Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo-terminal de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede encontrarse presente o no.

30 Una "modificación estimuladora de la heterodimerización" es una manipulación del esqueleto peptídico o las modificaciones post-traduccionales de un polipéptido, por ejemplo una cadena pesada de inmunoglobulina, que reduce o impide la asociación del polipéptido con un polipéptido idéntico para formar un homodímero. Una modificación estimuladora de la heterodimerización tal como se utiliza en la presente memoria incluye particularmente modificaciones separadas realizadas en cada uno de los dos polipéptidos que se desea que formen un dímero, en la que las modificaciones son complementarias entre sí, de manera que se induce la asociación de los dos polipéptidos. Por ejemplo, una modificación estimuladora de la heterodimerización puede alterar la estructura o la carga de uno o ambos polipéptidos que se desea que formen un dímero, de manera que la asociación resulte 35 estérica o electrostáticamente favorable, respectivamente. La heterodimerización se produce entre dos polipéptidos no idénticos, tales como dos cadenas pesadas de inmunoglobulina en las que los componentes adicionales del inmunoconjugado fusionados con cada una de las cadenas pesadas (por ejemplo el polipéptido IL-2) no son iguales. En los inmunoconjugados de la presente invención, la modificación promotora de heterodimerización se encuentra en la cadena o cadenas pesadas, específicamente en el dominio Fc, de una molécula de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, la modificación promotora de heterodimerización comprende una mutación de aminoácidos, específicamente una sustitución de aminoácidos. En una realización particular, la modificación estimuladora de la heterodimerización comprende una mutación de aminoácidos separada, específicamente una sustitución de aminoácidos en cada una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina.

45 La expresión "funciones efectoras" utilizada en referencia a anticuerpos se refiere a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, las cuales varían con el isotipo del anticuerpo. Entre los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo se incluyen: unión de C1q y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), unión de receptor de Fc, citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), regulación negativa de los receptores de superficie celular (por ejemplo 50 receptores de células B) y activación de las células B.

Un "receptor de Fc activador" es un receptor de Fc que tras la unión mediante una región de Fc de un anticuerpo induce sucesos de señalización que estimulan a que la célula portadora de receptor realice funciones efectoras. Entre los receptores de Fc activadores humanos se incluyen Fc $\gamma$ R1IIa (CD16a), Fc $\gamma$ R1 (CD64), Fc $\gamma$ R1IIa (CD32) y Fc $\alpha$ R1 (CD89).

60 Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "manipular, manipulado, manipulación" se considera que incluyen cualquier manipulación del esqueleto peptídico o las modificaciones post-traduccionales de un polipéptido natural o recombinante o fragmento del mismo. La manipulación incluye modificaciones de la secuencia de aminoácidos, del patrón de glucosilación o del grupo de cadena lateral de aminoácidos individuales, así como combinaciones de dichos enfoques.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "inmunoconjugado" se refiere a una molécula de polipéptido

que incluye por lo menos una fracción IL-2 y por lo menos una fracción de unión a antígeno. En determinadas realizaciones, el inmunoconjugado comprende por lo menos una fracción IL-2 y por lo menos dos fracciones de unión a antígeno. Los inmunoconjugados particulares según la invención esencialmente consisten de una fracción IL-2 y dos fracciones de unión a antígeno unidas mediante una o más secuencias conectoras. La fracción de unión a antígeno puede unirse a la fracción IL-2 mediante una diversidad de interacciones y en una diversidad de configuraciones tal como se indica en la presente memoria.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “fracción de unión a antígeno de control” se refiere a una fracción de unión a antígeno tal como existiría libre de otras fracciones de unión a antígeno y fracciones efectoras. Por ejemplo, al comparar un inmunoconjugado Fab-IL2-Fab descrito en la presente memoria con una fracción de unión a antígeno de control, la fracción de unión a antígeno de control es Fab libre, en la que el inmunoconjugado Fab-IL2-Fab y la molécula Fab libre pueden unirse ambas específicamente al mismo determinante antigénico.

Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos “primer” y “segundo” con respecto a las fracciones de unión a antígeno, etc., se utilizan por conveniencia para distinguir en qué casos se encuentra presente más de uno de cada tipo de fracción. La utilización de dichas expresiones no pretende proporcionar un orden específico u orientación del inmunoconjugado a menos que ello se indique explícitamente.

Una “cantidad eficaz” de un agente se refiere a la cantidad necesaria para resultar en un cambio fisiológico en la célula o tejido en el que se administra.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un agente, por ejemplo de una composición farmacéutica, se refiere a una cantidad que resulta eficaz, a las dosis y durante los periodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente, por ejemplo, elimina, reduce, retrasa, minimiza o impide los efectos adversos de una enfermedad.

Un “individuo” o “sujeto” es un mamífero. Entre los mamíferos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, animales domesticados (por ejemplo vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo seres humanos y primates no humanos tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo ratones y ratas). Particularmente, el individuo o sujeto es un ser humano.

La expresión “composición farmacéutica” se refiere a una preparación que se encuentra en una forma tal que permite que la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en la misma resulte eficaz, y que no contiene componentes adicionales que resulten inaceptablemente tóxicos para un sujeto en el que se administre la formulación.

Un “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a un ingrediente en una composición farmacéutica, aparte de un ingrediente activo, que no resulta tóxico para el sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye, aunque sin limitación, un tampón, excipiente, estabilizador o conservante.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “tratamiento” (y las variaciones gramaticales del mismo tales como “tratar” o “tratando”) se refieren a la intervención clínica en un intento para alterar el curso natural del individuo bajo tratamiento, y puede llevarse a cabo para la profilaxis o durante el curso de la patología clínica. Entre los efectos deseables del tratamiento se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, la prevención de la aparición o de la recurrencia de una enfermedad, el alivio de los síntomas, la reducción de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de la metástasis, la reducción de la tasa de progresión de la enfermedad, la mejora o paliación del estado de enfermedad, y la remisión o mejora del pronóstico. En algunas realizaciones, se utilizan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados indicados en la presente memoria para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para enlentecer el avance de la misma.

#### Descripción detallada de las realizaciones

La presente invención presenta como objetivo proporcionar un polipéptido IL-2 mutante que presenta propiedades mejoradas para la inmunoterapia. En particular, la invención presente como objetivo eliminar propiedades farmacológicas de IL-2 que contribuyen a la toxicidad pero que no resultan esenciales para la eficacia de IL-2. Tal como se ha comentado anteriormente, diferentes formas del receptor de IL-2 consisten de diferentes subunidades y muestran diferentes afinidades para IL-2. El receptor de IL-2 de afinidad intermedia, que consiste de las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$ , se expresa en células efectoras en reposo y resulta suficiente para la señalización de IL-2. El receptor de IL-2 de alta afinidad, que comprende adicionalmente la subunidad  $\alpha$  del receptor, se expresa principalmente en células T reguladoras ( $T_{reg}$ ), así como en células efectoras activadas en las que su unión a través de IL-2 puede inducir la inmunosupresión mediada por células  $T_{reg}$  o la muerte celular inducida por activación (AICD), respectivamente. De esta manera, sin pretender restringirse a ninguna teoría en particular, la reducción o eliminación de la afinidad de IL-2 para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 debería reducir la regulación negativa inducida por IL-2 del

funcionamiento de las células efectoras por parte de las células T reguladoras y el desarrollo de tolerancia tumoral mediante el proceso de la AICD. Por otra parte, el mantenimiento de la afinidad para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia debería mantener la inducción de la proliferación y activación de células efectoras tales como las células NK y T por parte de IL-2.

5 Ya existen en la técnica varios mutantes de IL-2; sin embargo, los inventores han encontrado nuevas mutaciones de aminoácidos del polipéptido IL-2, y combinaciones de las mismas, que resultan particularmente adecuadas para proporcionar a IL-2 las características deseadas para la inmunoterapia.

10 La presente exposición proporciona un polipéptido interleuquina-2 (IL-2) mutante que comprende una mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, cada uno en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. Pueden generarse mutantes de IL-2 humana (hIL-2) con afinidad reducida para CD25, por ejemplo, mediante sustitución de aminoácidos en las posiciones aminoácidas 35, 15 38, 42, 43, 45 ó 72 ó combinaciones de las mismas. Entre las sustituciones ejemplares de aminoácidos se incluyen K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. Algunas IL-2 mutantes particulares según la invención comprenden una mutación en una posición aminoácida correspondiente a los residuos 42, 45 ó 72 de la IL-2 humana, o una combinación de las mismas. Estos mutantes muestran una afinidad de unión sustancialmente similar para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, y presentan una afinidad sustancialmente reducida para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y el receptor de IL-2 de alta afinidad en comparación con la forma de tipo salvaje de la IL-2 mutante.

25 Entre otras características de los mutantes útiles pueden incluirse la capacidad de inducir la proliferación de las células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de inducir la señalización de IL-2 en células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de generar interferón (IFN)- $\gamma$  como citoquina secundaria por parte de las células NK, una capacidad reducida de inducir la elaboración de citoquinas secundarias, particularmente IL-10 y TNF- $\alpha$  por parte de células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMCs), una capacidad reducida de activar 30 células T reguladoras, una capacidad reducida de inducir apoptosis en las células T y un perfil de toxicidad reducido in vivo.

En una realización según la exposición, la mutación de aminoácidos que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el 35 receptor de IL-2 de afinidad intermedia, se encuentra en una posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación de aminoácidos es una sustitución de aminoácido. En una realización, dicha sustitución de aminoácidos se selecciona de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización más específica, dicha primera mutación de aminoácido es la sustitución de aminoácido L72G.

40 En un aspecto particular, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante que comprende una primera y una segunda mutaciones de aminoácidos que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido se encuentra en una posición 45 correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización específica, dicha primera mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es L72G. Dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición diferente que dicha primera mutación de aminoácido. En una realización, 50 dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición seleccionada de entre una posición correspondiente al residuo 35, 38, 42, 43 ó 45 de la IL-2 humana. En una realización, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización específica, dicha sustitución de aminoácido se selecciona de entre el grupo de K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización particular, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 ó 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización más específica, dicha segunda mutación de aminoácido es la sustitución de aminoácido F42A o 60 Y45A. En una realización más particular, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R y F42K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En

otra realización, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comprende una tercera mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. Dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición diferente que dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos. En una realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición seleccionada de entre las posiciones correspondientes a los residuos 35, 38, 42, 43 y 45 de la IL-2 humana. En una realización preferente, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 ó 45 de la IL-2 humana. En una realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En otra realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización, dicha sustitución de aminoácido se selecciona de entre el grupo de K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido se selecciona de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A o Y45A. En una realización, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En otra realización, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante no comprende una mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 38 de la IL-2 humana.

En un aspecto todavía más particular de la invención se proporciona un polipéptido IL-2 mutante que comprende tres mutaciones de aminoácidos que eliminan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia. En una realización, dichas tres mutaciones de aminoácidos se encuentran en posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dichas tres mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos. En una realización, dichas tres mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización específica, dichas tres mutaciones de aminoácidos son las sustituciones de aminoácidos F42A, Y45A y L72G.

En determinadas realizaciones, dicha mutación de aminoácido reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 en por lo menos 5 veces, específicamente en por lo menos 10 veces, más específicamente por lo menos 25 veces. En realizaciones en las que se produce más de una mutación de aminoácido que reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2, la combinación de dichas mutaciones de aminoácidos puede reducir la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 en por lo menos 30 veces, en por lo menos 50 veces o incluso en por lo menos 100 veces. En una realización, dicha mutación de aminoácido o combinación de mutaciones de aminoácidos elimina la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 de manera que no resulta detectable ninguna unión mediante la resonancia de plasmón superficial tal como se describe posteriormente en la presente memoria.

Una unión sustancialmente similar al receptor de afinidad intermedia, es decir la conservación de la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para dicho receptor, se consigue en el caso de que la IL-2 mutante muestre una afinidad superior a aproximadamente 70% de la afinidad de una forma de tipo salvaje de la IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia. Las IL-2 mutantes de la invención pueden mostrar una afinidad superior a aproximadamente 80% y todavía superior a aproximadamente 90% de dicha afinidad.

Los inventores han encontrado que una reducción de la afinidad de IL-2 para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 en combinación con la eliminación de la O-glucosilación de IL-2 resulta en una proteína IL-2 con propiedades mejoradas. Por ejemplo, la eliminación del sitio de O-glucosilación resulta en un producto más homogéneo en el caso de que el polipéptido IL-2 mutante se expresa en células de mamífero, tales como células CHO o HEK.

De esta manera, en determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante según la invención comprende una mutación de aminoácido adicional que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación adicional de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es una sustitución de aminoácido. Entre las sustituciones de aminoácido ejemplares se incluyen T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K y T3P. En una realización específica, dicha mutación de aminoácido adicional es la sustitución de aminoácido T3A.



En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante es esencialmente una molécula de IL-2 de longitud completa. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante es molécula de IL-2 humana. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia SEC ID nº 1 con por lo menos una mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 pero conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, en comparación con un polipéptido IL-2 que comprende SEC ID nº 1 sin dicha mutación. En otra realización, el polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia SEC ID nº 3 con por lo menos una mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 pero conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, en comparación con un polipéptido IL-2 que comprende SEC ID nº 3 sin dicha mutación.

En una realización específica, el polipéptido IL-2 puede inducir una o más de las respuestas celulares seleccionadas de entre el grupo que consiste de: la proliferación en una célula linfocito T activado, la diferenciación en una célula linfocito T activado, la actividad de células T citotóxicas (CTL), la proliferación en una célula B activada, la diferenciación de células B activadas, la proliferación de células asesinas naturales (NK), la diferenciación en una célula NK, la secreción de citoquinas por parte de una célula T actividad o de una célula NK, y la citotoxicidad antitumoral de células NK/linfocitos asesinos activados (LAK).

En una realización, el polipéptido IL-2 mutante presenta una capacidad reducida de inducir la señalización de IL-2 en células T reguladoras, en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante induce menos muerte celular inducida por activación (AICD) en las células T en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante presenta un perfil de toxicidad reducido in vivo en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante presenta un perfil de toxicidad reducido in vivo en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje.

Un polipéptido IL-2 mutante particular según la invención comprende cuatro sustituciones de aminoácido en posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. Son sustituciones de aminoácidos específicas, T3A, F42A, Y45A y L72G. Tal como se demuestra en los Ejemplos adjuntos, dicho polipéptido IL-2 mutante cuádruple no muestra unión detectable a CD25, una capacidad reducida de inducir apoptosis en células T, una capacidad reducida de inducir señalización de IL-2 en células T<sub>reg</sub> y un perfil de toxicidad in vivo reducido. Sin embargo, conserva capacidad de activar la señalización de IL-2 en células efectoras, de inducir proliferación de las células efectoras y de generar IFN- $\gamma$  como citoquina secundaria por parte de las células NK.

Además, dicho polipéptido IL-2 mutante presenta propiedades ventajosas adicionales, tales como una hidrofobicidad superficial reducida, una buena estabilidad y un buen rendimiento de expresión, tal como se indica en los Ejemplos. Inesperadamente, dicho polipéptido IL-2 mutante también proporciona una vida media en suero prolongada en comparación con la IL-2 de tipo salvaje.

Las IL-2 mutantes de la invención, además de presentar mutaciones en la región de IL-2 que forma la interfaz de IL-2 con CD25 o el sitio de glucosilación, también pueden presentar una o más mutaciones en la secuencia de aminoácidos en el exterior de dichas regiones. Dichas mutaciones adicionales en la IL-2 humana pueden proporcionar ventajas adicionales, tales como la expresión o estabilidad incrementadas. Por ejemplo, la cisteína en la posición 125 puede sustituirse por un aminoácido neutro, tal como serina, alanina, treonina o valina, rindiendo IL-2 C125S, IL-2 C125A, IL-2 C125T o IL-2 C125V, respectivamente, tal como se indica en la patente US nº 4.518.584. Tal como se describe en la misma, también puede deleccionarse el residuo de alanina N-terminal de IL-2, rindiendo mutantes tales como des-A1 C125S o des-A1 C125A. Alternativamente o conjuntamente, la IL-2 mutante puede incluir una mutación en la que la metionina normalmente presente en la posición 104 de la IL-2 humana de tipo salvaje es sustituida por un aminoácido neutro tal como alanina (ver la patente US nº 5.206.344). Los mutantes resultantes, por ejemplo IL-2 des-A1 M104A, IL-2 des-A1 M104A C125S, IL-2 M104A, IL-2 M104A C125A, IL-2 des-A1 M104A C125A o IL-2 M104A C125S (estos mutantes y otros pueden encontrarse en la patente US nº 5.116.943 y en Weiger et al., Eur. J. Biochem. 180:295-300, 1989) pueden utilizarse conjuntamente con las mutaciones de IL-2 particulares de la invención.

De esta manera, en determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante según la invención comprende una mutación adicional de aminoácido en una posición correspondiente al residuo 125 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación adicional de aminoácido es la sustitución de aminoácido C125A.

El experto en la materia podrá determinar qué mutaciones adicionales pueden proporcionar ventajas adicionales para el propósito de la invención. Por ejemplo, el experto en la materia apreciará que las mutaciones de aminoácidos en la secuencia de IL-2 que reducen o eliminan la afinidad de IL-2 para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, tal como D20T, N88R o Q126D (ver, por ejemplo, el documento nº US 2007/0036752), pueden no resultar adecuadas para su inclusión en el polipéptido IL-2 mutante según la invención.

En una realización, el polipéptido IL-2 mutante de la invención comprende una secuencia seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 7, SEC ID nº 11, SEC ID nº 15, y SEC ID nº 19. En una realización específica, el polipéptido IL-2 mutante de la invención comprende la secuencia SEC ID nº 15 ó a la secuencia SEC ID nº 19. En una realización todavía más específica, el polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia SEC ID nº 19.

Los polipéptidos IL-2 mutantes de la invención resultan particularmente útiles en el contexto de las proteínas de fusión de IL-2, tales como inmunoconjugados que portan IL-2. Dichas proteínas de fusión comprenden un polipéptido IL-2 mutante de la invención fusionado con una fracción no IL-2. La fracción no IL-2 puede ser una proteína sintética o natural o una parte o variante de la misma. Entre las fracciones no IL-2 ejemplares se incluyen albúmina, o dominios de anticuerpo tales como dominios Fc o dominios de unión a antígeno de inmunoglobulinas.

Los inmunoconjugados que portan IL-2 son proteínas de fusión que comprenden una fracción de unión a antígeno y una fracción IL-2. Incrementan significativamente la eficacia de la terapia de IL-2 mediante dianización directa de IL-2, por ejemplo al interior de un microambiente tumoral. Según la invención, una fracción de unión a antígeno puede ser un anticuerpo completo o inmunoglobulina, o una parte o variante del mismo que presenta una función biológica, tal como afinidad de unión específica a antígeno.

Los beneficios de la terapia de inmunoconjugados resultan fácilmente evidentes. Por ejemplo, una fracción de unión a antígeno de un inmunoconjugado reconoce un epítipo específico tumoral y resulta en la dianización de la molécula de inmunoconjugado al sitio tumoral. Por lo tanto, pueden administrarse concentraciones elevadas de IL-2 en el microambiente tumoral, resultando de esta manera en la activación y proliferación de una diversidad de células efectoras inmunológicas mencionadas en la presente memoria, utilizando una dosis mucho más baja del inmunoconjugado que la que resultaría necesaria para IL-2 no conjugada. Además, debido a que la aplicación de IL-2 en forma de inmunoconjugado permite dosis más bajas de la citoquina misma, el potencial de los efectos secundarios no deseables de IL-2 es limitado, y la dianización de IL-2 a un sitio específico del cuerpo por medio de un inmunoconjugado también puede resultar en una reducción de la exposición sistémica y de esta manera en menos efectos secundarios que los producidos con la IL-2 no conjugada. Además, la vida media en circulación incrementada de un inmunoconjugado en comparación con la IL-2 no conjugada contribuye a la eficacia del inmunoconjugado. Sin embargo, esta característica de los inmunoconjugados de IL-2 nuevamente puede agravar los potenciales efectos secundarios de la molécula de IL-2: debido a la vida media en circulación significativamente más prolongada del inmunoconjugado de IL-2 en el torrente sanguíneo comparado con la IL-2 no conjugada, se incrementa la probabilidad de que la IL-2 u otras partes de la molécula de proteína de fusión provoque la activación de componentes presentes generalmente en los vasos sanguíneos. La misma cuestión resulta aplicable a otras proteínas de fusión que contienen IL-2 fusionado con otra fracción, tal como Fc o albúmina, resultando en una vida media prolongada de IL-2 en la circulación. Por lo tanto, un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante según la invención con toxicidad reducida en comparación con formas de tipo salvaje de IL-2, resulta particularmente ventajoso.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la invención proporciona además un polipéptido IL-2 mutante tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, unido a por lo menos una fracción no IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante y la fracción no IL-2 forman una proteína de fusión, es decir, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico con la fracción no IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante se une a una primera y una segunda fracciones no IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante comprendido con la primera fracción de unión a antígeno un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal y la segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el polipéptido IL-2 mutante, o ii) la primera fracción de unión a antígeno. En una realización específica, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con dicha primera fracción no IL-2 y un enlace peptídico aminoterminal con dicha segunda fracción no IL-2. En una realización, dicha fracción no IL-2 es una fracción de dianización. En una realización particular, dicha fracción no IL-2 es una fracción de unión a antígeno (formando, de esta manera, un inmunoconjugado con el polipéptido IL-2 mutante, tal como se describe en mayor detalle posteriormente). En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo. En una realización, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa. En una realización, la fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina, particularmente una molécula de inmunoglobulina de clase IgG, más particularmente una molécula de inmunoglobulina de la subclase IgG1. En una dichas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal con una de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina. En otra realización, la fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. Entre algunas realizaciones, dicha fracción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, comprendiendo una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. En una realización más específica, la fracción de unión a antígeno es una molécula Fab o una molécula scFv. En una realización particular, la fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización, la fracción ligante de antígeno es una molécula scFv. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente de célula tumoral. En una realización preferente,

dicho antígeno se selecciona de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (ACE) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP). En el caso de que el polipéptido IL-2 mutante se encuentre unido a más de una fracción de unión a antígeno, por ejemplo una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno, cada fracción de unión a antígeno puede seleccionarse independientemente de entre diversas formas de anticuerpo y fragmentos de anticuerpo. Por ejemplo, la primera fracción de unión a antígeno puede ser una molécula Fab y la segunda fracción de antígeno puede ser una molécula scFv. En una realización específica, cada una de dichas primera y segunda fracciones de unión a antígeno es una molécula de scFv o cada una de dichas primera y segunda fracciones de unión a antígeno es una molécula Fab. En una realización particular, cada una de dichas primera y segunda fracciones de unión a antígeno es una molécula Fab. De manera similar, en el caso de que el polipéptido IL-2 mutante se encuentre unido a más de una fracción de unión a antígeno, por ejemplo una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno, el antígeno al que se dirige cada una de las fracciones de unión a antígeno puede seleccionarse independientemente. En una realización, dichas primera y segunda fracciones de unión a antígeno se dirigen a diferentes antígenos. En otra realización, dichas primera y segunda fracciones de unión a antígeno se dirigen al mismo antígeno. Tal como se ha descrito anteriormente, el antígeno es particularmente un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, más particularmente un antígeno seleccionado de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (ACE) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP). La región de unión a antígeno puede incorporar además cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en la presente memoria en relación a los dominios de unión a antígeno de los inmunos conjugados.

#### Inmunos conjugados

En un aspecto particular, la invención proporciona un inmunos conjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante que comprende una o más mutaciones de aminoácidos que eliminan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, y por lo menos una fracción de unión a antígeno. En una realización según la invención, la mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, se encuentra en una posición seleccionada de entre las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización, dichas mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K, más concretamente, una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, Y45A y L72G. En una realización, la mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R y F42. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En otra realización, dicha mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En todavía otra realización, la mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es L72G. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante según la invención no comprende una mutación de aminoácido en una posición correspondiente al residuo 38 de la IL-2 humana. En una realización particular, el polipéptido IL-2 mutante comprendido en el inmunos conjugado de la invención comprende por lo menos una primera y una segunda mutaciones de aminoácidos que eliminan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos se encuentran en dos posiciones seleccionadas de entre las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización particular, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, Y45A y L72G. El polipéptido IL-2 mutante puede incorporar además cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en los párrafos anteriores en relación a los polipéptidos IL-2 mutantes de la invención. En una realización, dicho polipéptido IL-2 mutante comparte un

enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha fracción de unión a antígeno comprendida en el inmunoconjugado, es decir, el inmunoconjugado es una proteína de fusión. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo. Entre algunas realizaciones, dicha fracción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, comprendiendo una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. La región de unión a antígeno puede incorporar cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en la presente memoria en relación a los dominios de unión a antígeno.

#### Formatos de inmunoconjugado

Los formatos de inmunoconjugado particularmente adecuados se describen en la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783. Estos inmunoconjugados comprenden por lo menos dos dominios de unión a antígeno. De esta manera, en una realización, el inmunoconjugado según la presente invención comprende por lo menos un primer polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria, y por lo menos una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno. En una realización particular, dichas primera y segundas fracciones de unión a antígeno se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste de una molécula Fv, concretamente una molécula scFv, y una molécula Fab. En una realización específica, el primer polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha primera fracción de unión a antígeno y dicha segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el primer polipéptido IL-2 mutante, o ii) la primera fracción de unión a antígeno. En una realización particular, el inmunoconjugado consiste esencialmente un primer polipéptido IL-2 mutante y una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno, unidas por una o más secuencias conectoras. Dichos formatos presentan la ventaja de que se unen con alta afinidad al antígeno diana (tal como un antígeno tumoral), sino únicamente la unión monomérica al receptor de IL-2, evitando de esta manera la dianización del inmunoconjugado a las células inmunológicas portadoras de receptores de IL-2 en otras localizaciones apartes del sitio diana. En una realización particular, un primer polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera fracción de unión a antígeno y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En otra realización, una primera fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En otra realización, una primera fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En una realización particular, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera región variable de cadena pesada y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda región variable de cadena pesada. En otra realización, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera región variable de cadena ligera y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda región variable de cadena ligera. En otra realización, se une una primera región variable de cadena pesada o ligera mediante un enlace peptídico carboxiterminal a un primer polipéptido IL-2 mutante, y se une adicionalmente mediante un enlace peptídico aminoterminal a una segunda región variable de cadena pesada o ligera. En otra realización, se une una primera región variable de cadena pesada o ligera mediante un enlace peptídico aminoterminal a un primer polipéptido IL-2 mutante, y se une adicionalmente mediante un enlace peptídico carboxiterminal a una segunda región variable de cadena pesada o ligera. En una realización, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una cadena pesada o ligera de un primer Fab y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En otra realización, una cadena pesada o ligera de un primer Fab comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En otras realizaciones, una cadena pesada o ligera de un primer Fab comparte un enlace peptídico aminoterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un primer polipéptido IL-2 mutante que comparte un enlace peptídico aminoterminal con una o más moléculas scFv y que comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una o más moléculas scFv.

Otros formatos de inmunoconjugado particularmente adecuados comprenden una molécula de inmunoglobulina a modo de fracción de unión a antígeno. En una de dichas realizaciones, el inmunoconjugado comprende por lo menos un polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria y una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG1. En una realización, el inmunoconjugado comprende no más de un polipéptido IL-2 mutante. En una realización, la molécula de inmunoglobulina es humana. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con la molécula de inmunoglobulina. En una realización, el inmunoconjugado consiste esencialmente de un polipéptido IL-2 mutante y una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG1, unida mediante una o más secuencias conectoras. En una realización específica, el polipéptido IL-2 mutante se encuentra unido en su aminoácido aminoterminal al aminoácido carboxiterminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina. En determinadas realizaciones, la

molécula de inmunoglobulina comprende en el dominio Fc una modificación que induce la heterodimerización de dos cadenas pesadas de inmunoglobulina no idénticas. El sitio de interacción proteína-proteína más extensiva entre las dos cadenas polipeptídicas de un dominio Fc de IgG humana se encuentra en el dominio CH3 del dominio Fc. De esta manera, en una realización, dicha modificación se encuentra en el dominio CH3 del dominio Fc. En una  
 5 realización específica, dicha modificación es una modificación de botón-en-ojal, que comprende una modificación del botón en una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina y una modificación de ojal en la otra cadena pesada de inmunoglobulina. La tecnología de botón-en-ojal se describe en, por ejemplo, las patentes US nº 5.731.168 y nº 7.695.936, y en Ridgway et al., Prot. Eng. 9:617-621, 1996 y Carter, J. Immunol. Meth. 248:7-15, 2001. Generalmente, el método implica la introducción de una protuberancia ("botón") en la interfaz entre un primer polipéptido y una cavidad correspondiente ("ojal") en la interfaz de un segundo polipéptido, de manera que la protuberancia pueda situarse en la cavidad, de modo que se promueve la formación de heterodímero y se dificulta la formación de homodímero. Las protuberancias se construyen sustituyendo cadenas laterales de aminoácidos pequeños de la interfaz del primer polipéptido por cadenas laterales de aminoácidos de mayor tamaño (por ejemplo de tirosinas o triptófanos). Las cavidades compensatorias de tamaño igual o similar al de las protuberancias se crean en la interfaz del segundo polipéptido mediante la sustitución de las cadenas de aminoácidos grandes por cadenas de aminoácidos más pequeños (por ejemplo alanina o treonina): La protuberancia y cavidad pueden realizarse mediante la alteración del ácido nucleico codificante de los polipéptidos, por ejemplo mediante mutagénesis sitio-específica o mediante síntesis peptídica. En una realización específica, una modificación de botón comprende la sustitución de aminoácido T366W en una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y la modificación de ojal comprende las sustituciones de aminoácidos T366S, L368A y Y407V en la otra de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina. En una realización específica adicional, la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la modificación de botón comprende además la modificación de aminoácido S354C y la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la modificación de ojal comprende además la sustitución de aminoácido Y349C. La introducción de estos dos residuos de cisteína resulta en la formación de un puente disulfuro entre las dos cadenas pesadas, estabilizando adicionalmente el dímero (Carter, J. Immunol. Methods 248:7-15, 2001).

En una realización particular, el polipéptido IL-2 mutante se une al aminoácido carboxiterminal de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la modificación de botón.

En una realización alternativa, una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas polipeptídicas no idénticas comprende una modificación que media en efectos de giro electrostático, por ejemplo tal como se describe en la solicitud de patente PCT nº WO 2009/089004. Generalmente, este método implica la sustitución de uno o más residuos aminoácidos en la interfaz de las dos cadenas polipeptídicas por residuos aminoácidos con carga, de manera que la formación de homodímero resulta electrostáticamente desfavorable, mientras que la heterodimerización resulta electrostáticamente favorable.

Un dominio Fc proporciona al inmunoconjugado propiedades farmacocinéticas favorables, entre ellas una vida media en suero prolongada que contribuye a una acumulación considerable en el tejido diana y a una proporción de distribución tejido-sangre favorable. Sin embargo, simultáneamente puede llevar a una dianización no deseable del inmunoconjugado a células que expresan receptores de Fc y no a las células portadoras de antígenos preferentes. Además, la coactivación de las rutas de señalización de receptores de Fc puede conducir a la liberación de citoquinas que, en combinación con el polipéptido IL-2 y la vida media prolongada del inmunoconjugado, resulta en una activación excesiva de los receptores de citoquina y efectos secundarios severos con la administración sistémica. En línea con lo anteriormente expuesto, se han descrito inmunoconjugados de IgG-IL-2 convencionales asociados con reacciones de infusión (ver, por ejemplo, King et al., J. Clin. Oncol. 22:4463-4473, 2004).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en determinadas realizaciones, la molécula de inmunoglobulina comprendida en el inmunoconjugado según la invención se manipula para que presente una afinidad de unión reducida para un receptor de Fc. En una de dichas realizaciones, la inmunoglobulina comprende en su dominio Fc una o más mutaciones de aminoácidos que reducen la afinidad de unión del inmunoconjugado para un receptor de Fc. Típicamente, la misma o mismas mutaciones de aminoácidos se encuentran presentes en cada una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina. En una realización, dicha mutación de aminoácido reduce la afinidad de unión del inmunoconjugado para el receptor de Fc en por lo menos 2 veces, en por lo menos 5 veces o en por lo menos 10 veces. En realizaciones en las que se produce más de una mutación de aminoácido que reduce la afinidad de unión del inmunoconjugado para el receptor de Fc, la combinación de estas mutaciones de aminoácidos puede reducir la afinidad de unión del dominio Fc para el receptor de Fc en por lo menos 10 veces, en por lo menos 20 veces o incluso en por lo menos 50 veces. En una realización, el inmunoconjugado que comprende una molécula de inmunoglobulina manipulada muestra una afinidad de unión para un receptor de Fc inferior a 20%, concretamente inferior a 10%, más concretamente inferior a 5% de la afinidad de unión de un inmunoconjugado que comprende una molécula de inmunoglobulina no manipulada. En una realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En una realización específica, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ, más concretamente un receptor FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa. Preferentemente, la unión a cada uno de dichos receptores se encuentra reducida. En algunas realizaciones, la afinidad de unión a un componente de complemento, con afinidad de unión específica a C1q,

también se encuentra reducida. En una realización, la afinidad de unión para el receptor de Fc neonatal (FcRn) no se encuentra reducida. Se consigue una unión sustancialmente similar a FcRn, es decir la conservación de la afinidad de unión de la inmunoglobulina a dicho receptor, en el caso de que la inmunoglobulina (o el inmunconjugado que comprende dicha inmunoglobulina) muestre una afinidad de unión superior a aproximadamente 70% de la afinidad de unión de una forma no manipulada de la inmunoglobulina (o del inmunconjugado que comprende dicha forma no manipulada de la inmunoglobulina) para FcRn. Las inmunoglobulinas o inmunconjugados que comprenden dichas inmunoglobulinas pueden mostrar una afinidad superior a aproximadamente 80% e incluso superior a aproximadamente 90% de dicha afinidad. En una realización, la mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización, la inmunoglobulina comprende una sustitución de aminoácido en la posición P329 de la cadena pesada de inmunoglobulina (numeración Kabat). En una realización más específica, la sustitución de aminoácido es P329A o P329G, particularmente P329G. En una realización, la inmunoglobulina comprende una sustitución de aminoácido adicional en una posición seleccionada de entre S228, E233, L234, L235, N297 y P332 de la cadena pesada de inmunoglobulina. En una realización más específica, la sustitución de aminoácido adicional es S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S. En una realización particular, la inmunoglobulina comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones P329, L234 y L235 de la cadena pesada de inmunoglobulina. En una realización más particular, la inmunoglobulina comprende las mutaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G (LALA P329G). Esta combinación de sustituciones de aminoácidos elimina prácticamente por completo la unión del receptor Fcγ de una molécula IgG humana y por lo tanto reduce la función efectora, incluyendo la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC).

En determinadas realizaciones, el inmunconjugado comprende uno o más sitios de corte proteolítico localizados entre el polipéptido IL-2 mutante y las fracciones de unión a antígeno.

Los componentes del inmunconjugado (por ejemplo las fracciones de unión a antígeno y/o el polipéptido IL-2 mutante) pueden unirse directamente o mediante diversas moléculas conectoras, particularmente conectores peptídicos que comprenden uno o más aminoácidos, típicamente entre aproximadamente 2 y 20 aminoácidos, que se indican en la presente memoria o que son conocidos de la técnica. Entre los péptidos conectores no inmunogénicos que resultan adecuados se incluyen, por ejemplo, los péptidos conectores  $(G_4S)_n$ ,  $(SG_4)_n$  o  $G_4(SG_4)_n$ , en los que n generalmente es un número comprendido entre 1 y 10, típicamente entre 2 y 4.

#### Fracciones de unión a antígeno

La fracción de unión a antígeno del inmunconjugado de la invención es generalmente una molécula de polipéptido que se une a un determinante antigénico específico y es capaz de dirigir la entidad a la que se une (por ejemplo un polipéptido IL-2 mutante o una segunda fracción de unión a antígeno) a un sitio diana, por ejemplo a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral que porta el determinante antigénico. El inmunconjugado puede unirse a determinantes antigénicos presentes, por ejemplo, sobre las superficies de las células tumorales, sobre las superficies de las células infectadas por virus, sobre las superficies de otras células enfermas, libres en suero sanguíneo, y/o en la matriz extracelular (ECM).

Entre los ejemplos no limitativos de antígenos tumorales se incluyen MAGE, MART-1/Melan-A, gp100, dipeptidil peptidasa IV (DPPIV), proteína de unión a adenosina desaminasa (ADA<sub>Bp</sub>), ciclofilina b, antígeno asociado a cáncer colorrectal (CRC)-C017-1A/GA733, antígeno carcinoembrionario (ACE) y sus epítopos inmunogénicos CAP-1 y CAP-2, etv6, aml1, antígeno específico de próstata (PSA) y sus epítopos inmunogénicos PSA-1, PSA-2 y PSA-3, antígeno membranal específico de próstata (PSMA), receptor de células T/cadena CD3-zeta, familia MAGE de antígenos tumorales (por ejemplo MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-Xp2 (MAGE-B2), MAGE-Xp3 (MAGE-B3), MAGE-Xp4 (MAGE-B4), MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), familia GAGE de antígenos tumorales (por ejemplo GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V, MUM-1, CDK4, tirosinasa, p53, familia MUC, HER2/neu, p21ras, RCAS1, α-fetoproteína, E-cadherina, α-catenina, β-catenina y γ-catenina, p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, proteína de la poliposis adenomatosa coli (APC), fodrina, conexina 37, idiotipo Ig, p15, gp75, gangliósidos Gm2 y GD2, productos víricos, tales como las proteínas del virus del papiloma humano, familia Smad de antígenos tumorales, Imp-1, P1A, antígeno 1 nuclear codificado por el VEB (EBNA), glucógeno fosforilasa cerebral, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 y CT-7 y c-erbB-2.

Entre los ejemplos no limitativos de antígenos víricos se incluyen la hemaglutinina del virus influenza, LMP-1 del virus de Epstein-Barr, la glucoproteína E2 del virus de la hepatitis C, gp160 del VIH y gp120 del VIH.

Entre los ejemplos no limitativos de los antígenos de la MEC se incluyen sindecan, heparanasa, integrinas, osteopontina, link, cadherinas, laminina, FCE de tipo laminina, lectina, fibronectina, notch, tenascina y matrixina.

Los inmunocombinados indicados en la presente memoria pueden unirse a los ejemplos no limitativos específicos siguientes de antígenos de superficie celular: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD2 (antígeno de superficie de células T), CD3 (heteromultímero asociado al TCR), CD22 (receptor de células B), CD23 (receptor de IgE de baja afinidad), CD30 (receptor de citoquina), CD33 (antígeno de superficie de célula mielóide), CD40 (receptor del factor de necrosis tumoral), IL-6R (receptor de IL6), CD20, MCSP y PDGFβR (receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas).

En una realización, el inmunocombinado indicado en la presente memoria comprende dos o más fracciones de unión a antígeno, en el que cada uno de dichas fracciones de unión a antígeno se une específicamente al mismo determinante antigénico. En otra realización, el inmunocombinado indicado en la presente memoria comprende dos o más fracciones de unión a antígeno, en el que cada una de dichas fracciones de unión a antígeno se une específicamente a diferentes determinantes antigénicos.

La fracción de unión a antígeno puede ser cualquier tipo de anticuerpo o fragmento del mismo que conserve la unión específica a un determinante antigénico. Entre los fragmentos de anticuerpo se incluyen, aunque sin limitación, fragmentos de V<sub>H</sub>, fragmentos de V<sub>L</sub>, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, fragmentos scFv, fragmentos Fv, minicuerpos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos (ver, por ejemplo, Hudson y Souriau, Nature Med. 9:129-134, 2003).

Las fracciones de unión a antígeno particularmente adecuados se describen en la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783.

En una realización, el inmunocombinado comprende por lo menos típicamente dos o más fracciones de unión a antígeno, que son específicos del dominio extra B de la fibronectina (DEB). En otra realización, el inmunocombinado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que pueden competir con el anticuerpo monoclonal L19 para la unión a un epítipo de EDB Ver, por ejemplo, la solicitud publicada de patente PCT nº WO 2007/128563 A1. En todavía otra realización, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido IL-2 mutante que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con una segunda cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En todavía otra realización, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En una realización adicional, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que un primer scFv derivado del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido IL-2 mutante que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un segundo scFv derivado del anticuerpo monoclonal L19.

En una realización más específica, el inmunocombinado comprende la secuencia polipeptídica SEC ID nº 199 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En otra realización, el inmunocombinado comprende una cadena ligera de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En una realización más específica, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 201 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En todavía otra realización, el inmunocombinado comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 199 y SEC ID nº 201 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, los polipéptidos se encuentran unidos covalentemente, por ejemplo mediante un enlace disulfuro.

En una realización, el inmunocombinado indicado en la presente memoria comprende por lo menos una, típicamente dos o más, fracciones de unión a antígeno, que son específicas para el dominio A1 de la tenascina (TNC-A1). En otra realización, el inmunocombinado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que pueden competir con el anticuerpo monoclonal F16 para la unión a un epítipo de TNC-A1 Ver, por ejemplo, la solicitud publicada de patente PCT nº WO 2007/128563 A1. En una realización, el inmunocombinado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más que son específicos para el dominio A1 y/o A4 de la tenascina (TNC-A1 o TNC-A4 o TNC-A1/A4). En todavía otra realización, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido IL-2 mutante que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina. En todavía otra realización, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido IL-2 mutante que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con una segunda cadena ligera de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina. En una realización adicional, el inmunocombinado comprende una secuencia polipeptídica en la que un primer scFv específica para el dominio A1 de

la tenascina comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido IL-2 mutante que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un segundo scFv específico para el dominio A1 de la tenascina. En otra realización, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para TNC-A1 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 33 ó a la secuencia SEC ID nº 35, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 29 ó a la secuencia SEC ID nº 31, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 33 ó a la secuencia SEC ID nº 35 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 29 ó a la secuencia SEC ID nº 31 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 34 ó a la secuencia SEC ID nº 36. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida de la secuencia SEC ID nº 34 ó a la secuencia SEC ID nº 36. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 30 ó a la secuencia SEC ID nº 32. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoc conjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida de la secuencia SEC ID nº 30 ó a la secuencia SEC ID nº 32.

En una realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 203 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoc conjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 205 ó a la secuencia SEC ID nº 215, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoc conjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 207 ó a la secuencia SEC ID nº 237 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En una realización más específica, el inmunoc conjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 205 y SEC ID nº 207 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoc conjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 215 y SEC ID nº 237 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

En una realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 204. En otra realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida de secuencia SEC ID nº 204. En otra realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 206 ó a la secuencia SEC ID nº 216. En todavía otra realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida de secuencia SEC ID nº 206 ó a la secuencia SEC ID nº 216. En otra realización específica, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 208 ó a la secuencia SEC ID nº 238. En todavía otra realización, el inmunoc conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida de la secuencia SEC ID nº 208 ó a la secuencia SEC ID nº 238.

En una realización, el inmunoc conjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o



más que son específicos para el dominio A2 de la tenascina (TNC-A2). En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para el dominio A2 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para el dominio A2 de la tenascina. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena ligera de Fab específica para el dominio A2 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena ligera de Fab específica para el dominio A2 de la tenascina. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para TNC-A2 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 27, SEC ID nº 159, SEC ID nº 163, SEC ID nº 167, SEC ID nº 171, SEC ID nº 175, SEC ID nº 179, SEC ID nº 183 y SEC ID nº 187, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 23, SEC ID nº 25, SEC ID nº 157, SEC ID nº 161, SEC ID nº 165, SEC ID nº 169, SEC ID nº 173, SEC ID nº 177, SEC ID nº 181 y SEC ID nº 185, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 27, SEC ID nº 159, SEC ID nº 163, SEC ID nº 167, SEC ID nº 171, SEC ID nº 175, SEC ID nº 179, SEC ID nº 183 y SEC ID nº 187, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 23, SEC ID nº 25, SEC ID nº 157, SEC ID nº 161, SEC ID nº 165, SEC ID nº 169, SEC ID nº 173, SEC ID nº 177, SEC ID nº 181 y SEC ID nº 185, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 28, SEC ID nº 160, SEC ID nº 164, SEC ID nº 168, SEC ID nº 172, SEC ID nº 176, SEC ID nº 180, SEC ID nº 184 y SEC ID nº 188. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 28, SEC ID nº 160, SEC ID nº 164, SEC ID nº 168, SEC ID nº 172, SEC ID nº 176, SEC ID nº 180, SEC ID nº 184 y SEC ID nº 188. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 24, SEC ID nº 26, SEC ID nº 158, SEC ID nº 162, SEC ID nº 166, SEC ID nº 170, SEC ID nº 174, SEC ID nº 178, SEC ID nº 182 y SEC ID nº 186. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 24, SEC ID nº 26, SEC ID nº 158, SEC ID nº 162, SEC ID nº 166, SEC ID nº 170, SEC ID nº 174, SEC ID nº 178, SEC ID nº 182 y SEC ID nº 186.

En una realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 241, SEC ID nº 243 y SEC ID nº 245, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 247, SEC ID nº 249 y SEC ID nº 251, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 241, SEC ID nº 243, y SEC ID nº 245 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 247, SEC ID nº 249 y SEC ID nº 251 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 241 y a la secuencia SEC ID nº 249 ó a la secuencia SEC ID nº 251, o variantes de las mismas que conservan

funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 243 y a la secuencia SEC ID nº 247 ó a la secuencia SEC ID nº 249, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 245 y SEC ID nº 247, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad.

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 242, SEC ID nº 244 y SEC ID nº 246. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 242, SEC ID nº 244 y SEC ID nº 246. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 248, SEC ID nº 250 y SEC ID nº 252. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 248, SEC ID nº 250 y SEC ID nº 252.

En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más que son específicos para la proteína activada por fibroblastos (FAP). En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para FAP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para FAP. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena ligera de Fab específica para FAP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena ligera de Fab específica para FAP. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para FAP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 41, SEC ID nº 45, SEC ID nº 47, SEC ID nº 51, SEC ID nº 55, SEC ID nº 59, SEC ID nº 63, SEC ID nº 67, SEC ID nº 71, SEC ID nº 75, SEC ID nº 79, SEC ID nº 83, SEC ID nº 87, SEC ID nº 91, SEC ID nº 95, SEC ID nº 99, SEC ID nº 103, SEC ID nº 107, SEC ID nº 111, SEC ID nº 115, SEC ID nº 119, SEC ID nº 123, SEC ID nº 127, SEC ID nº 131, SEC ID nº 135, SEC ID nº 139, SEC ID nº 143, SEC ID nº 147, SEC ID nº 151 y SEC ID nº 155, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 37, SEC ID nº 39, SEC ID nº 43, SEC ID nº 49, SEC ID nº 53, SEC ID nº 57, SEC ID nº 61, SEC ID nº 65, SEC ID nº 69, SEC ID nº 73, SEC ID nº 77, SEC ID nº 81, SEC ID nº 85, SEC ID nº 89, SEC ID nº 93, SEC ID nº 97, SEC ID nº 101, SEC ID nº 105, SEC ID nº 109, SEC ID nº 113, SEC ID nº 117, SEC ID nº 121, SEC ID nº 125, SEC ID nº 129, SEC ID nº 133, SEC ID nº 137, SEC ID nº 141, SEC ID nº 145, SEC ID nº 149 y SEC ID nº 153, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 41, SEC ID nº 45, SEC ID nº 47, SEC ID nº 51, SEC ID nº 55, SEC ID nº 59, SEC ID nº 63, SEC ID nº 67, SEC ID nº 71, SEC ID nº 75, SEC ID nº 79, SEC ID nº 83, SEC ID nº 87, SEC ID nº 91, SEC ID nº 95, SEC ID nº 99, SEC ID nº 103, SEC ID nº 107, SEC ID nº 111, SEC ID nº 115, SEC ID nº 119, SEC ID nº 123, SEC ID nº 127, SEC ID nº 131, SEC ID nº 135, SEC ID nº 139, SEC ID nº 143, SEC ID nº 147, SEC ID nº 151 y SEC ID nº 155, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 37, SEC ID nº 39, SEC ID nº 43, SEC ID nº 49, SEC ID nº 53, SEC ID nº 57, SEC ID nº 61, SEC ID nº 65, SEC ID nº 69, SEC ID nº 73, SEC ID nº 77, SEC ID nº 81, SEC ID nº 85, SEC ID nº 89, SEC ID nº 93, SEC ID nº 97, SEC ID nº 101, SEC ID nº 105, SEC ID nº 109, SEC ID nº 113, SEC ID nº 117, SEC ID nº 121, SEC ID nº 125, SEC ID nº 129, SEC ID nº 133, SEC ID nº 137, SEC ID nº 141, SEC ID nº 145, SEC ID nº 149 y SEC ID nº 153, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 41 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 39. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 51 y la región variable de cadena ligera

SEC ID nº 49. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 111 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 109. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 143 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 141. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 151 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 149.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 42, SEC ID nº 46, SEC ID nº 48, SEC ID nº 52, SEC ID nº 56, SEC ID nº 60, SEC ID nº 64, SEC ID nº 68, SEC ID nº 72, SEC ID nº 76, SEC ID nº 80, SEC ID nº 84, SEC ID nº 88, SEC ID nº 92, SEC ID nº 96, SEC ID nº 100, SEC ID nº 104, SEC ID nº 108, SEC ID nº 112, SEC ID nº 116, SEC ID nº 120, SEC ID nº 124, SEC ID nº 128, SEC ID nº 132, SEC ID nº 136, SEC ID nº 140, SEC ID nº 144, SEC ID nº 148, SEC ID nº 152, y SEC ID nº 156. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 42, SEC ID nº 46, SEC ID nº 48, SEC ID nº 52, SEC ID nº 56, SEC ID nº 60, SEC ID nº 64, SEC ID nº 68, SEC ID nº 72, SEC ID nº 76, SEC ID nº 80, SEC ID nº 84, SEC ID nº 88, SEC ID nº 92, SEC ID nº 96, SEC ID nº 100, SEC ID nº 104, SEC ID nº 108, SEC ID nº 112, SEC ID nº 116, SEC ID nº 120, SEC ID nº 124, SEC ID nº 128, SEC ID nº 132, SEC ID nº 136, SEC ID nº 140, SEC ID nº 144, SEC ID nº 148, SEC ID nº 152, y SEC ID nº 156. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 38, SEC ID nº 40, SEC ID nº 44, SEC ID nº 50, SEC ID nº 54, SEC ID nº 58, SEC ID nº 62, SEC ID nº 66, SEC ID nº 70, SEC ID nº 74, SEC ID nº 78, SEC ID nº 82, SEC ID nº 86, SEC ID nº 90, SEC ID nº 94, SEC ID nº 98, SEC ID nº 102, SEC ID nº 106, SEC ID nº 110, SEC ID nº 114, SEC ID nº 118, SEC ID nº 122, SEC ID nº 126, SEC ID nº 130, SEC ID nº 134, SEC ID nº 138, SEC ID nº 142, SEC ID nº 146, SEC ID nº 150, y SEC ID nº 154. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 38, SEC ID nº 40, SEC ID nº 44, SEC ID nº 50, SEC ID nº 54, SEC ID nº 58, SEC ID nº 62, SEC ID nº 66, SEC ID nº 70, SEC ID nº 74, SEC ID nº 78, SEC ID nº 82, SEC ID nº 86, SEC ID nº 90, SEC ID nº 94, SEC ID nº 98, SEC ID nº 102, SEC ID nº 106, SEC ID nº 110, SEC ID nº 114, SEC ID nº 118, SEC ID nº 122, SEC ID nº 126, SEC ID nº 130, SEC ID nº 134, SEC ID nº 138, SEC ID nº 142, SEC ID nº 146, SEC ID nº 150, y SEC ID nº 154.

En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 209, SEC ID nº 211, SEC ID nº 213, SEC ID nº 217, SEC ID nº 219, SEC ID nº 221, SEC ID nº 223, SEC ID nº 225, SEC ID nº 227, y SEC ID nº 229, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 231, SEC ID nº 233, SEC ID nº 235 y SEC ID nº 239 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En una realización más específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 211 ó a la secuencia SEC ID nº 219 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 233 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 209, SEC ID nº 221, SEC ID nº 223, SEC ID nº 225, SEC ID nº 227 y SEC ID nº 229 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 231 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En una realización específica adicional, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 213 y SEC ID nº 235 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 217 y SEC ID nº 239 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 219 y SEC ID nº 233 ó variantes de la misma que



idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 298, SEC ID nº 302 y SEC ID nº 316. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 298, SEC ID nº 302 y SEC ID nº 316. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 300, SEC ID nº 304 y SEC ID nº 318. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 300, SEC ID nº 304 y SEC ID nº 318.

En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más que son específicos del proteoglicano condroitín sulfato del melanoma (MCSP). En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para MCSP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para MCSP. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena ligera de Fab específica para MCSP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una molécula de IL-2, que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena ligera de Fab específica para MCSP. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para MCSP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 189 ó a la secuencia SEC ID nº 193 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 191 ó a la secuencia SEC ID nº 197 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 189 ó a la secuencia SEC ID nº 193 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 191 ó a la secuencia SEC ID nº 197, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 189, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 191. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 193, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 191.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a SEC ID nº 190 ó a la secuencia SEC ID nº 194. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida de la secuencia SEC ID nº 190 ó a la secuencia SEC ID nº 194. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 192 ó a la secuencia SEC ID nº 198. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida de la secuencia SEC ID nº 192 ó a la secuencia SEC ID nº 198.

En una realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 253 ó a la secuencia SEC ID nº 257, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 255 ó a la secuencia SEC ID nº 261, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización más específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente

80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 253 ó a la secuencia SEC ID nº 257 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 255 ó a la secuencia SEC ID nº 261, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmuoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 253 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 255 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmuoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 257 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 255 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

En otra realización específica, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 254 o SEC ID nº 258. En todavía otra realización específica, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida de secuencia SEC ID nº 254 o SEC ID nº 258. En otra realización específica, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a SEC ID nº 256 o SEC ID nº 262. En todavía otra realización específica, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida de secuencia SEC ID nº 256 o SEC ID nº 262.

En una realización, el inmuoconjugado comprende por lo menos una fracción de unión a antígeno, típicamente dos o más, que son específicas para el antígeno carcinoembrionario (ACE). En todavía otra realización, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para ACE comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para ACE. En una realización, el inmuoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para ACE comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante. En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmuoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 313 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmuoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 311 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmuoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 313 ó una variante de las mismas que conserva funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 311 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de las fracciones de unión a antígeno del inmuoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a SEC ID nº 314. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de las fracciones de unión a antígeno del inmuoconjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida SEC ID nº 314. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de las fracciones de unión a antígeno del inmuoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 312. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de las fracciones de unión a antígeno del inmuoconjugado se encuentra codificada por la secuencia polinucleótida SEC ID nº 312.

En otra realización específica, el inmuoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 319, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmuoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 321, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmuoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 323, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 319 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 321 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 323 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad.

En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 320. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida SEC ID nº 320. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 322. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida SEC ID nº 322. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a la secuencia SEC ID nº 324. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por la secuencia polinucleótida SEC ID nº 324.

Entre las fracciones de unión a antígeno de la invención se incluyen aquéllas que comprenden secuencias que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a las secuencias peptídicas indicadas en SEC ID nº 23 a 261 (números impares), 311 y 313, incluyendo los fragmentos o variantes funcionales de las mismas. La invención también comprende fracciones de unión a antígeno que comprenden secuencias SEC ID nº 23 a nº 261 (números impares), 293 a 303 (números impares), 311 y 313 con sustituciones conservadoras de aminoácidos.

### 30 Polinucleótidos

La exposición proporciona además polinucleótidos aislados codificantes de un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria.

Entre los polinucleótidos de la invención se incluyen aquellos que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticos a las secuencias indicadas en SEC ID nº 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 24 a 262 (número pares), 293 a 296 y 298 a 324 (números pares), incluyendo fragmentos o variantes funcionales de las mismas.

Los polinucleótidos codificantes de polipéptidos IL-2 mutantes no unidos a una fracción no IL-2 se expresan generalmente en forma de polinucleótidos individuales que codifican el polipéptido entero.

En una realización, la presente exposición se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de IL-2 mutante SEC ID nº 7, 11, 15 ó 19. La invención también comprende un polinucleótido aislado codificante de un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de IL-2 mutante SEC ID nº 7, 11, 15 ó 19 con sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 8, SEC ID nº 9, SEC ID nº 10, SEC ID nº 12, SEC ID nº 13, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16, SEC ID nº 17, SEC ID nº 18, SEC ID nº 20, SEC ID nº 21, SEC ID nº 22, SEC ID nº 293, SEC ID nº 294, SEC ID nº 295 y SEC ID nº 296. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 8, SEC ID nº 9, SEC ID nº 10, SEC ID nº 12, SEC ID nº 13, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16, SEC ID nº 17, SEC ID nº 18, SEC ID nº 20, SEC ID nº 21, SEC ID nº 22, SEC ID nº 293, SEC ID nº 294, SEC ID nº 295 y SEC ID nº 296. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de ácidos nucleicos que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 8, SEC ID nº 9, SEC ID nº 10, SEC ID nº 12, SEC ID nº 13, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16, SEC ID nº 17, SEC ID nº 18, SEC ID nº 20, SEC ID nº 21, SEC ID nº 22, SEC ID nº 293, SEC ID nº 294, SEC ID nº 295 y SEC ID nº 296. En otra realización, la invención se refiere a un

polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 8, SEC ID nº 9, SEC ID nº 10, SEC ID nº 12, SEC ID nº 13, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16, SEC ID nº 17, SEC ID nº 18, SEC ID nº 20, SEC ID nº 21, SEC ID nº 22, SEC ID nº 293, SEC ID nº 294, SEC ID nº 295 y SEC ID nº 296. Los polinucleótidos codificantes de inmunoconjugados tal como los indicados en la presente memoria pueden expresarse a partir de un único polinucleótido que codifica el inmunoconjugado completo o a partir de múltiples polinucleótidos (por ejemplo dos o más) que se coexpresan. Los polipéptidos codificados por polinucleótidos que se coexpresan pueden asociarse mediante, por ejemplo, enlaces disulfuro u otros medios para formar un inmunoconjugado funcional. Por ejemplo, la parte de cadena pesada de una fracción de unión a antígeno puede encontrarse codificada por un polinucleótido separado de una parte del inmunoconjugado que comprende la parte de cadena ligera de la fracción de unión a antígeno y el polipéptido IL-2 mutante. Al coexpresarse, los polipéptidos de cadena pesada se asocian con los polipéptidos de cadena ligera formando la fracción de unión a antígeno. Alternativamente, en otro ejemplo, la parte de cadena ligera de una fracción de unión a antígeno puede encontrarse codificada por un polinucleótido separado de una parte del inmunoconjugado que comprende la parte de cadena pesada de la fracción de unión a antígeno y el polipéptido IL-2 mutante. En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante y una fracción de unión a antígeno. En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica la cadena pesada de una fracción de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica la cadena ligera de una fracción de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización específica, un polinucleótido aislado tal como se indica en la presente memoria codifica un fragmento de un inmunoconjugado que comprende por lo menos un polipéptido IL-2 mutante y por lo menos una, preferentemente dos o más, fracciones de unión a antígeno, en el que un primer polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con una primera fracción de antígeno y una segunda fracción de antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con el primer polipéptido IL-2 mutante o la primera fracción de unión a antígeno. En una realización, las fracciones de unión a antígeno se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste de una molécula Fv, concretamente una molécula scFv, y una molécula Fab. En otra realización específica, el polinucleótido codifica las cadenas pesadas de dos de las fracciones de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización específica, el polinucleótido codifica las cadenas ligeras de dos de las fracciones de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización específica, el polinucleótido codifica una cadena ligera de una de las fracciones de unión a antígeno, una cadena pesada de una segunda fracción de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante.

En otra realización específica, un polinucleótido aislado tal como se indica en la presente memoria codifica un fragmento de un inmunoconjugado, en el que el polinucleótido codifica las cadenas pesadas de dos moléculas de Fab y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización específica, un polinucleótido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunoconjugado, en el que el polinucleótido codifica las cadenas ligeras de dos moléculas de Fab y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización específica, un polinucleótido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunoconjugado, en el que el polinucleótido codifica la cadena pesada de una molécula de Fab, la cadena ligera de una segunda molécula de Fab y un polipéptido IL-2 mutante.

En una realización, un polinucleótido aislado tal como se indica en la presente memoria codifica un inmunoconjugado que comprende por lo menos un polipéptido IL-2 mutante, unido por sus aminoácidos aminoterminal y carboxiterminal a una o más moléculas de scFv.

En otra realización, un polinucleótido aislado tal como se indica en la presente memoria codifica un fragmento de un inmunoconjugado, en el que el polinucleótido codifica la cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG1, y un polipéptido IL-2 mutante. En una realización más específica, el polinucleótido aislado codifica la cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina y un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal con la cadena pesada de inmunoglobulina.

En otra realización, la presente exposición se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia codificante de una secuencia de región variable tal como se muestra en SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 ó 313. En otra realización, la presente invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia polipeptídica mostrada en SEC ID nº 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 ó 323. En otra realización, la invención se refiere además a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o



5 fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99 idéntica a una secuencia de nucleótidos mostrada en SEC ID nº 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 298, 300, 302, 304, 312, 314, 316, 318, 320, 322 or 324. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmuoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de ácidos nucleicos mostrada en SEC ID nº 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 298, 300, 302, 304, 312, 314, 316, 318, 320, 322 or 324. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmuoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de región variable que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 o 313. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmuoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia polipeptídica que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de SEC ID nº 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 or 323. La invención comprende un polinucleótido aislado codificante de un inmuoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica las secuencias de región variable SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 ó 313 con sustituciones conservadoras de aminoácidos. La invención también comprende un polinucleótido aislado codificante de un inmuoconjugado de la invención o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica las secuencias polipeptídicas SEC ID nº 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 ó 323 con sustituciones conservadoras de aminoácidos.

40 En determinadas realizaciones, el polinucleótido o ácido nucleico es ADN. En otras realizaciones, un polinucleótido de la presente invención es ARN, por ejemplo en forma de ARN mensajero (ARNm). El ARN de la presente invención puede ser de cadena sencilla o de doble cadena.

Métodos recombinantes

45 Los polipéptidos IL-2 mutantes tales como los indicados en la presente memoria pueden prepararse mediante delección, sustitución, inserción o modificación utilizando métodos genéticos o químicos bien conocidos de la técnica. Entre los métodos genéticos pueden incluirse la mutagénesis sitio-específico de la secuencia de ADN codificante, la PCR, la síntesis génica y similares. Los cambios de nucleótidos correctos pueden verificarse mediante, por ejemplo, secuenciación. A este respecto, la secuencia de nucleótidos de la IL-2 nativa ha sido descrita por Taniguchi *et al.* (Nature 302:305-10, 1983) y el ácido nucleico codificante de la IL-2 humana se encuentra disponible de depósitos públicos tales como la American Type Culture Collection (Rockville, MD). La secuencia de la IL-2 humana nativa se muestra en la SEC ID nº 1. La sustitución o inserción puede implicar residuos aminoácidos tanto naturales como no naturales. La modificación de aminoácidos incluye métodos bien conocidos de modificación química, tales como la adición de sitios de glucosilación o uniones de carbohidratos, y similares.

55 Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmuoconjugados tales como los indicados en la presente memoria pueden obtenerse, por ejemplo, mediante síntesis peptídica de estado sólido o producción recombinante. Para la producción recombinante de uno o más polinucleótidos codificantes de dicho polipéptido IL-2 mutante o inmuoconjugado (fragmento), por ejemplo tal como se ha indicado anteriormente, se aísla y se inserta en uno o más vectores para la clonación adicional y/o expresión en una célula huésped. Dicho polinucleótido puede aislarse y secuenciarse fácilmente mediante procedimientos convencionales. En una realización se proporciona un vector, preferentemente un vector de expresión, que comprende uno o más de los polinucleótidos indicados en la presente memoria. Pueden utilizarse métodos que son bien conocidos por el experto en la materia para construir vectores de

expresión que contienen la secuencia codificante de un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado (fragmento) conjuntamente con señales de control transcripcional/traduccionales apropiadas. Entre estos métodos se incluyen técnicas *in vitro* de ADN recombinante, técnicas sintéticas y recombinación *in vivo*/recombinación genética. Ver, por ejemplo, las técnicas descritas en Maniatis *et al.*, *Molecular Cloning: A LABORATORY MANUAL*, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989; y Ausubel *et al.*, *CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY*, Greene Publishing Associates y Wiley Interscience, N.Y., 1989. El vector de expresión puede ser parte de un plásmido o virus, o puede ser un fragmento de ácido nucleico. El vector de expresión incluye un casete de expresión en el que el polinucleótido codificante de la IL-2 mutante o del inmunoconjugado (fragmento) (es decir, la región codificante) se clona en asociación operable con un promotor y/o otros elementos de control de la transcripción o traducción. Tal como se utiliza en la presente memoria, una "región codificante" es una parte de un ácido nucleico que consiste de codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de parada" (TAG, TGA o TAA) no se traduce en un aminoácido, puede considerarse parte de una región codificante, en caso de encontrarse presente, mientras que cualesquiera secuencias flanqueantes, por ejemplo promotores, sitios de unión ribosómica, terminadores de transcripción, intrones, regiones 5' y 3' no traducidas y similares, no son parte de una región codificante. Pueden encontrarse presentes dos o más regiones codificantes en un único constructo polinucleótido, por ejemplo en un único vector, o en constructos polinucleótidos separados, por ejemplo en vectores separados (diferentes). Además, cualquier vector puede contener una única región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo un vector indicado en la presente memoria puede codificar una o más poliproteínas, que se separan post-traduccionalmente o cotraduccionalmente en las proteínas finales mediante corte proteolítico. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico tal como se indica en la presente memoria puede codificar regiones codificantes heterólogas, fusionadas o no fusionadas con un primer o segundo polinucleótido codificante de los polipéptidos indicados en la presente memoria, o variante o derivado de los mismos. Entre las regiones codificantes heterólogas se incluyen, aunque sin limitación, elementos especializados o motivos, tales como un péptido de señal secretoria o un dominio funcional heterólogo. Una asociación operable se produce en el caso de que una región codificante de un producto génico, por ejemplo un polipéptido, se asocie a una o más secuencias reguladoras de manera que sitúa la expresión del producto génico bajo la influencia o el control de la secuencia o secuencias reguladoras. Dos fragmentos de ADN (tales como una región codificante de polipéptido y un promotor asociado a la misma) se encuentran "operablemente asociados" en el caso de que la inducción de la función del promotor resulte en la transcripción de ARNm codificante del producto génico deseado y en el caso de que la naturaleza del enlace entre los dos fragmentos de ADN no interfiera con la capacidad de las secuencias reguladoras de la expresión de dirigir la expresión del producto génico o de interferir con la capacidad del molde de ADN de ser transcrito. De esta manera, una región promotora se encontraría operablemente asociada a un ácido nucleico codificante de un polipéptido en el caso de que el promotor fuera capaz de inducir la transcripción de dicho ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de un tipo de célula que dirige una transcripción sustancial del ADN únicamente en células predeterminadas. Otros elementos de control de la transcripción, aparte de un promotor, por ejemplo intensificadores, operadores, represores y señales de terminación de la transcripción, pueden asociarse operablemente al polinucleótido para dirigir la transcripción específica de un tipo celular. Los promotores y otras regiones de control de la transcripción que resultan adecuados se dan a conocer en la presente memoria. Una diversidad de regiones de control de la transcripción es conocida por el experto en la materia. Entre ellas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, regiones de control de la transcripción que funcionan en células de vertebrado, tales como, aunque sin limitarse a ellos, segmentos de promotor e intensificador procedentes de citomegalovirus (por ejemplo el promotor temprano inmediato, conjuntamente con el intrón A), el virus 40 del simio (por ejemplo el promotor temprano) y los retrovirus (tales como, por ejemplo, el virus del sarcoma de Rous). Entre otras regiones de control de la transcripción se incluyen aquéllas derivadas de genes de vertebrado, tales como actina, proteína de choque térmico, hormona de crecimiento bovina y  $\beta$ -globina de conejo, así como otras secuencias capaces de controlar la expresión génica en las células eucarióticas. Entre las regiones de control de la transcripción adecuadas adicionales se incluyen los promotores e intensificadores específicos de un tejido, así como promotores inducibles (por ejemplo los promotores inducibles por tetraciclinas). De manera similar, el experto ordinario en la materia conocerá una diversidad de elementos de control de la transcripción. Entre ellos se incluyen, aunque sin limitación, sitios de unión ribosómica, codones de inicio y terminación de la traducción, y elementos derivados de sistemas víricos (particularmente un sitio interno de entrada ribosómica, o IRES, también denominado secuencia CITE). El casete de expresión también puede incluir otros elementos, tales como un origen de replicación y/o elementos de integración cromosómica tales como repeticiones terminales largas retrovíricas (RTL) o repeticiones terminales invertidas (RTI) víricas adenoasociadas (VAA).

Las regiones codificantes polinucleótidas y de ácidos nucleicos indicadas en la presente memoria pueden encontrarse asociadas a regiones codificantes adicionales que codifican péptidos secretorios o de señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido tal como se indica en la presente memoria. Por ejemplo, en el caso de que se desee la secreción del polipéptido IL-2 mutante, puede situarse el ADN codificante de una secuencia de señal cadena arriba del ácido nucleico codificante de los aminoácidos maduros de la IL-2 mutante. Lo mismo se aplica a los inmunoconjugados indicados en la presente memoria o fragmentos de los mismos. Según la hipótesis de la señal, las proteínas secretadas por las células de mamífero presentan un péptido de señal o secuencia líder secretoria que resulta cortada de la proteína madura tras iniciarse la exportación de la cadena

proteica en crecimiento a través del retículo endoplasmático rugoso. El experto ordinario en la materia conocerá que los polipéptidos secretados por las células de vertebrado generalmente presentan un péptido de señal fusionado al extremo N-terminal del polipéptido, que resulta cortado del polipéptido traducido, produciendo una forma secretada o "madura" del polipéptido. Por ejemplo, la IL-2 humana se traduce con una secuencia de señal de 20 aminoácidos en el extremo N-terminal del polipéptido, que posteriormente se escinde para producir la IL-2 humana madura de 133 aminoácidos. En determinadas realizaciones, se utiliza el péptido de señal nativo, por ejemplo el péptido de señal de IL-2 o un péptido de señal de cadena pesada o ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional de dicha secuencia que conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que se encuentra operablemente asociado con la misma. Alternativamente, puede utilizarse un péptido de señal de mamífero heterólogo, o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia líder de tipo salvaje puede sustituirse por la secuencia líder del activador del plasminógeno tisular humano (APT) o de la  $\beta$ -glucuronidase de ratón. En las SEC ID nº 236 a nº 273 se muestran secuencias polinucleótidas y de aminoácidos ejemplares de péptidos de señal secretoria.

El ADN codificante de una secuencia corta de proteína que podría utilizarse para facilitar la posterior purificación (por ejemplo una etiqueta de histidinas) o asistir en el marcaje del mutante o inmunoconjugado de IL-2 puede incluirse dentro del polinucleótido codificante del mutante o inmunoconjugado (fragmento) de IL-2 ó en los extremos del mismo.

En una realización adicional, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos de la invención. En determinadas realizaciones, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vectores de la invención. Los polinucleótidos y vectores pueden incorporar cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en la presente memoria en relación a los polinucleótidos y vectores, respectivamente. En una de dichas realizaciones, una célula huésped comprende (por ejemplo ha sido transformada o transfectada) un vector que comprende un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende el polipéptido IL-2 mutante de la invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "célula huésped" se refiere a cualquier tipo de sistema celular que pueda manipularse para generar los polipéptidos o inmunoconjugados de IL-2 mutante de la invención o fragmentos de los mismos. Las células huésped adecuadas para la replicación y para proporcionar soporte a la expresión de polipéptidos o inmunoconjugados de IL-2 mutante son bien conocidas de la técnica. Dichas células pueden transfectarse o transducirse según resulte apropiado con el vector de expresión particular y pueden cultivarse grandes cantidades de células que contienen el vector para la siembra de fermentadores a gran escala con el fin de obtener cantidades suficientes del mutante o inmunoconjugado de IL-2 para aplicaciones clínicas. Entre las células huésped adecuadas se incluyen los microorganismos procarióticos, tales como *E. coli*, o diversas células eucarióticas, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de insecto, y similares. Por ejemplo, pueden producirse polipéptidos en bacterias, en particular en el caso de que no resulte necesaria la glucosilación. Tras la expresión, puede aislarse el polipéptido a partir de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y puede purificarse adicionalmente. Además de procariotas, algunos microbios eucarióticos tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o de expresión adecuados para los vectores codificantes de polipéptidos, incluyendo cepas de hongos y de levaduras cuyas rutas de glucosilación han sido "humanizadas", resultando en la producción de un polipéptido con un patrón de glucosilación parcial o totalmente humano. Ver Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414, 2004, y Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215, 2006. Las células huésped adecuadas para la expresión de polipéptidos (glucosilados) también se derivan a partir de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Entre los ejemplos de células de invertebrado se incluyen las células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas baculovíricas que pueden utilizarse conjuntamente con células de insecto, particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. También pueden utilizarse cultivos de células vegetales como huéspedes. Ver, por ejemplo, las patentes US nº 5.959.177, nº 6.040.498, nº 6.420.548, nº 7.125.978 y nº 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para la producción de anticuerpos en plantas transgénicas). También pueden utilizarse células de vertebrado como huéspedes. Por ejemplo, pueden resultar útiles líneas celulares de mamífero adaptadas para el crecimiento en suspensión. Otros ejemplos de líneas celulares huésped de mamífero que resultan útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7), la línea renal embrionaria humana (células 293 ó 293T descritas en, por ejemplo, Graham et al., J. Gen. Virol. 36:59, 1977), las células renales de hámster neonato (BHK), las células de Sertoli de ratón (células TM4 tal como se describen en, por ejemplo, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251, 1980), las células de riñón de mono (CV1), las células renales de mono verde africano (VERO-76), las células de carcinoma cervical humano (HELA), las células renales caninas (MDCK), las células hepáticas de rata búfalo (BRL 3A), las células pulmonares humanas (W138), las células hepáticas humanas (Hep G2), las células de tumor mamario de ratón (MMT 060562), las células TRI (tal como se describe en, por ejemplo, Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68, 1982), las células MRC 5 y las células FS4. Entre otras líneas celulares huéspedes de mamífero que resultan útiles se incluyen las células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo las células CHO dhfr- (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216, 1980) y las líneas celulares de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas celulares huésped de mamífero adecuadas para la producción de proteínas ver, por ejemplo, Yazaki y Wu, Methods in Molecular Biology, vol. 248 (B.K.C. Lo, editor, Humana Press, Totowa, NJ), páginas 255-268 (2003). Entre las células huésped se incluyen las células en cultivo, por ejemplo células de mamífero en cultivo, células de levadura, células de insecto, células bacterianas y células vegetales, entre otras,

aunque también células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénica o tejido vegetal o animal en cultivo. En una realización, la célula huésped es una célula eucariótica, particularmente una célula de mamífero, por ejemplo una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula renal embrionaria (HEK) o una célula linfocítica (por ejemplo células YO, NSO ó Sp20).

Son conocidas de la técnica tecnologías estándares para expresar genes foráneos en estos sistemas. Las células que expresan un polipéptido IL-2 mutante fusionado con la cadena pesada o ligera de un dominio de unión a antígeno, tal como un anticuerpo, pueden manipularse de manera que también expresen las demás cadenas de anticuerpo, de manera que el producto de fusión de IL-2 mutante expresado sea un anticuerpo que presente tanto una cadena pesada como una cadena ligera.

En una realización, se proporciona un método de producción de un mutante o inmunoconjugado del polipéptido IL-2 según la invención, en el que el método comprende cultivar una célula huésped que comprende un polinucleótido codificante del mutante o inmunoconjugado del polipéptido IL-2, tal como se proporciona en la presente memoria, bajo condiciones adecuadas para la expresión del mutante o inmunoconjugado del polipéptido IL-2, y opcionalmente recuperar el mutante o inmunoconjugado de polipéptido IL-2 a partir de la célula huésped (o medio de cultivo de la célula huésped).

En determinadas realizaciones según la invención, el polipéptido IL-2 mutante se une a por lo menos una fracción no IL-2. Puede prepararse un mutante de IL-2 en el que el segmento de polipéptido IL-2 mutante se une a una o más moléculas, tales como un polipéptido, proteína, carbohidrato, lípido, ácido nucleico o polinucleótido o a moléculas que son combinaciones de dichas moléculas (por ejemplo glucoproteínas, glucolípidos, etc.). El polipéptido IL-2 mutante también puede unirse a una fracción orgánica, fracción inorgánica o farmacéutico. Tal como se utiliza en la presente memoria, un farmacéutico es un compuesto que contiene sustancias orgánicas de aproximadamente 5.000 daltons o menos. El polipéptido IL-2 mutante también puede unirse a cualquier agente biológico, incluyendo compuestos terapéuticos, tales como agentes antineoplásicos, agentes antimicrobianos, hormonas, inmunomoduladores, agentes antiinflamatorios y similares. También se encuentran incluidos isótopos radioactivos tales como aquellos que resultan útiles para la obtención de imágenes, así como para la terapia.

El polipéptido IL-2 mutante también puede unirse a múltiples moléculas del mismo tipo o a más de un tipo de molécula. En determinadas realizaciones, la molécula que se une a IL-2 puede proporcionar la capacidad de dirigir la IL-2 a tejidos o células específicos en un animal y se denomina en la presente memoria "fracción de diana". En estas realizaciones, la fracción de diana puede presentar afinidad para un ligando o receptor en el tejido o célula diana, dirigiendo de esta manera la IL-2 al tejido o célula diana. En una realización particular, la fracción de diana dirige la IL-2 a un tumor. Entre las fracciones de diana se incluyen, por ejemplo, las fracciones de unión a antígeno (por ejemplo anticuerpos y fragmentos de los mismos) específicos para proteínas de superficie celular o intracelular, ligandos de receptores biológicos, y similares. Dichas fracciones de unión a antígeno pueden ser específicas para antígenos asociados a tumor, tales como las indicadas en la presente memoria.

Un polipéptido IL-2 mutante puede fusionarse genéticamente con otro polipéptido, por ejemplo un anticuerpo de una sola cadena o (parte de) cadenas pesadas o ligeras de un anticuerpo, o puede conjugarse químicamente con otra molécula. La fusión de un polipéptido IL-2 mutante con parte de una cadena pesada de anticuerpo se describe en los Ejemplos. Puede diseñarse una IL-2 mutante que sea una fusión entre un polipéptido IL-2 mutante y otro polipéptido, de manera que la secuencia de IL-2 se encuentre fusionada directamente con el polipéptido o indirectamente mediante una secuencia conectora. La composición y longitud de la molécula conectora pueden determinarse de acuerdo con métodos bien conocidos de la técnica y pueden someterse a ensayo para su eficacia. Un ejemplo de una secuencia conectora entre IL-2 y una cadena pesada de anticuerpo se encuentra en las secuencias mostradas en, por ejemplo, SEC ID nº 209, 211, 213, etc. También pueden incluirse secuencias adicionales para incorporar un sitio de corte con el fin de separar los componentes individuales de la fusión si se desea, por ejemplo una secuencia de reconocimiento de endopeptidasa. Además, también puede sintetizarse químicamente una IL-2 mutante o proteína de fusión de la misma, utilizando métodos de síntesis de polipéptidos bien conocidos de la técnica (por ejemplo la síntesis en fase sólida de Merrifield). Los polipéptidos IL-2 mutantes pueden conjugarse químicamente con otras moléculas, por ejemplo con otro polipéptido, utilizando métodos de conjugación química bien conocidos. Para este propósito pueden utilizarse reactivos de entrecruzamiento bifuncionales tales como reactivos de entrecruzamiento homofuncionales y heterofuncionales bien conocidos de la técnica. El tipo de reactivo de entrecruzamiento que debe utilizarse depende de la naturaleza de la molécula que debe acoplarse con IL-2 y podrá ser fácilmente identificada por el experto en la materia. Alternativamente, o adicionalmente, la IL-2 mutante y/o la molécula con la que pretende conjugarse puede derivatizarse químicamente de manera que las dos pueden conjugarse en una reacción separada, como también es bien conocido de la técnica.

En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante se une a una o más fracciones de unión a antígeno (es decir, es parte de un inmunoconjugado) que comprenden por lo menos una región variable de anticuerpo capaz de unirse a un determinante antigénico. Las regiones variables pueden formar parte y derivarse de anticuerpos

naturales o no naturales y de fragmentos de los mismos. Los métodos para producir anticuerpos policlonales y monoclonales son bien conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, Harlow y Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Pueden construirse anticuerpos no naturales utilizando la síntesis peptídica en fase sólida, mediante recombinación (por ejemplo tal como se describe en la patente US nº 4.186.567) o pueden obtenerse mediante, por ejemplo, cribado de bibliotecas combinatoriales que comprenden cadenas pesadas variables y cadenas ligeras variables (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.969.108, de McCafferty). Los inmunconjugados, las fracciones de unión a antígeno y los métodos para producirlos también se describen en detalle en la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783.

Puede unirse un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o región variable de cualquier especie animal a un polipéptido IL-2 mutante. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, dominios de unión a antígeno o regiones variables no limitativos que resultan útiles en la presente invención pueden ser de origen murino, de primate o humano. En el caso de que el conjugado o fusión de IL-2 mutante/anticuerpo esté destinado al uso humano, puede utilizarse una forma química del anticuerpo en la que las regiones constantes del anticuerpo proceden de un ser humano. También puede prepararse una forma humanizada o totalmente humana del anticuerpo según métodos bien conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.565.332, de Winter). La humanización puede conseguirse mediante diversos métodos, entre ellos: (a) injertar las CDR no humanas (por ejemplo del anticuerpo donante) en regiones de marco y constantes humanas (por ejemplo del anticuerpo receptor) con o sin conservación de los residuos de marco críticos (por ejemplo aquellos que resultan importantes para conservar una buena afinidad de unión a antígeno o las funciones del anticuerpo), (b) injertar únicamente las regiones determinantes de especificidad no humanas (SDR o CDR-a, los residuos críticos para la interacción de anticuerpo-antígeno) en regiones de marco y constantes humanas, o (c) trasplantar los dominios variables no humanos completos, aunque "recubriéndolos" con una sección de tipo humano mediante sustitución de los residuos de superficie. Los anticuerpos humanizados y los métodos de preparación de los mismos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008, y se describen adicionalmente en, por ejemplo, Riechmann et al., *Nature* 332:323-329, 1988; Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033, 1989; patentes US nº 5.821.337, nº 7.527.791, nº 6.982.321 y nº 7.087.409; Jones et al., *Nature* 321:522-525, 1986; Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:6851-6855, 1984; Morrison y Oi, *Adv. Immunol.* 44:65-92, 1988; Verhoeyen et al., *Science* 239:1534-1536, 1988; Padlan, *Molec. Immun.* 31(3):169-217, 1994; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34, 2005 (que describe la injertación de SDR (CDR-a)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498, 1991 (que describe la "resuperficialización"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60, 2005 (que describe la "reorganización de FRs") y Osbourn et al., *Methods* 36:61-68, 2005, y Klimka et al., *Br. J. Cancer* 83:252-260, 2000 (que describe el enfoque de "selección guiada" a la reorganización de FRs). Pueden producirse anticuerpos humanos y regiones variables humanas utilizando diversos métodos conocidos de la técnica. Los anticuerpos humanos se describen de manera general en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74, 2001, y en Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459, 2008. Las regiones variables humanas pueden formar parte y derivarse a partir de anticuerpos monoclonales humanos preparados mediante el método del hibridoma (ver, por ejemplo, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, páginas 51 a 63 (Marcel Dekker Inc., New York, 1987). También pueden prepararse anticuerpos humanos y regiones variables humanas mediante la administración de un inmunógeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta al reto antigénico (ver, por ejemplo, Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125, 2005). También pueden generarse anticuerpos humanos y regiones variables humanas mediante aislamiento de las secuencias de región variable de un clon de Fv seleccionadas de bibliotecas de expresión fágica derivadas de seres humanos (ver, por ejemplo, Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., editor, Human Press, Totowa, NJ, 2001, y McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352:624-628, 1991). Los fagos típicamente expresan fragmentos de anticuerpo, en forma de fragmentos monocatenarios de Fv (scFv) o en forma de fragmentos Fab. Puede encontrarse una descripción detallada de la preparación de fracciones de unión a antígeno para inmunconjugados mediante expresión fágica en los Ejemplos adjuntos a la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783.

En determinadas realizaciones, las fracciones de unión a antígeno que resultan útiles en la presente invención se manipulan para que presenten una afinidad de unión incrementada de acuerdo con, por ejemplo, los métodos dados a conocer en la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783 (ver los Ejemplos referentes a la maduración de la afinidad) o la solicitud publicada de patente US nº 2004/0132066, el contenido completo de la cual se incorpora como referencia en la presente memoria. La capacidad del inmunconjugado de la invención de unirse a un determinante antigénico específico puede medirse mediante un ensayo de inmunosorción ligada a enzima (ELISA) u otras técnicas que resultarán familiares al experto en la materia, por ejemplo la técnica de resonancia del plasmón superficial (analizada en un sistema BIACORE T100) (Liljeblad et al., *Glyco. J.* 17:323-329, 2000) y ensayos de unión tradicionales (Heeley R.P., *Endocr. Res.* 28:217-229, 2002). Pueden utilizarse ensayos de competición para identificar un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o dominio variable que compita con un anticuerpo de referencia para la unión a un antígeno particular, por ejemplo un anticuerpo que compita con el anticuerpo L19 para la unión al dominio B extra de la fibronectina (EDB). En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítipo (por ejemplo un epítipo lineal o conformacional) al que se une el

anticuerpo de referencia. Se proporcionan métodos ejemplares detallados para la localización de un epítipo al que se une un anticuerpo en Morris, "Epitope Mapping Protocols", en: Methods in Molecular Biology, vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ), 1996. En un ensayo de competición ejemplar, se incubaba antígeno inmovilizado (por ejemplo EDB) en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo el anticuerpo L19) y un segundo anticuerpo no marcado que se somete a ensayo para su capacidad de competir con el primer anticuerpo para la unión al antígeno. El segundo anticuerpo puede encontrarse presente en un sobrenadante de hibridoma. A modo de control, se incubaba antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado pero no el segundo anticuerpo no marcado. Tras la incubación bajo condiciones permisivas de la unión del primer anticuerpo al antígeno, se elimina el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de marcaje asociado al marcaje inmovilizado. En el caso de que la cantidad de marcaje asociado al antígeno inmovilizado se encuentre sustancialmente reducido en la muestra de ensayo respecto a la muestra de control, este hecho indica que el segundo anticuerpo compite con el primer anticuerpo para la unión al antígeno. Ver Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, capítulo 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY), 1988.

Puede resultar deseable la modificación química adicional del mutante o inmunoconjugado de IL-2 de la invención. Por ejemplo, pueden mejorarse los problemas de inmunogenicidad y de vida media corta mediante la conjugación con polímeros de cadena sustancialmente lineal, tales como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG) (ver, por ejemplo, el documento nº WO 87/00056).

Los mutantes e inmunoconjugados de IL-2 preparados tal como se describe en la presente memoria pueden purificarse mediante métodos conocidos de la técnica, tales como la cromatografía líquida de alto rendimiento, la cromatografía de intercambio iónico, la electroforesis en gel, la cromatografía de afinidad, la cromatografía de exclusión por tamaño, y similares. Las condiciones reales utilizadas para purificar una proteína particular dependerán, en parte, de factores tales como la carga neta, hidrofobicidad, hidrofiliidad, etc., y resultarán evidentes para el experto en la materia. Para la purificación mediante cromatografía de afinidad, puede utilizarse un anticuerpo, ligando, receptor o antígeno al que se une el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado. Por ejemplo, puede utilizarse un anticuerpo que se una específicamente al polipéptido IL-2 mutante. Para la purificación mediante cromatografía de afinidad de los inmunoconjugados de la invención, puede utilizarse una matriz con proteína A o con proteína G. Por ejemplo, la cromatografía de afinidad de proteína A o G y la cromatografía de exclusión por tamaño realizadas en secuencia pueden utilizarse para aislar un inmunoconjugado tal como se describe en los Ejemplos. La pureza de los polipéptidos IL-2 mutantes y las proteínas de fusión de los mismos pueden determinarse mediante cualquiera de entre una diversidad de métodos analíticos bien conocidos, incluyendo la electroforesis en gel, la cromatografía líquida de alta presión, y similares. Por ejemplo, las proteínas de fusión de cadena pesada expresadas tal como se describe en los Ejemplos se demostró que se encontraban intactas y ensambladas correctamente, tal como pone de manifiesto la SDS-PAGE reductora (ver, por ejemplo, la figura 14). Se resolvieron dos bandas en aproximadamente Mr 25.000 y Mr 60.000, correspondientes a los pesos moleculares predichos de la cadena ligera de inmunoglobulina y la proteína de fusión de cadena pesada/IL-2.

#### Ensayos

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados proporcionados en la presente memoria pueden identificarse, cribarse o caracterizarse para sus propiedades físicoquímicas y/o actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos de la técnica.

#### Ensayos de afinidad

Puede generarse un heterodímero recombinante de receptor  $\beta/\gamma$  de receptor de IL-2 mediante la fusión de cada una de las subunidades a un monómero dominio Fc de anticuerpo modificado mediante la tecnología de botón-en-ochal (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.731.168), induciendo la heterodimerización de las proteínas de fusión apropiadas de subunidad de receptor/Fc (ver SEC ID nº 102 y nº 103). Alternativamente, la afinidad de unión de IL-2 mutantes para diferentes formas del receptor de IL-2 puede evaluarse utilizando líneas celulares que es conocido que expresan una u otra de dichas formas del receptor. Una realización ilustrativa y ejemplar específica para medir la afinidad de unión se describe a continuación y en los Ejemplos, posteriormente. Según una realización, KD se mide mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un aparato BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25°C con receptores de IL-2 inmovilizados sobre un chip CM5. Brevemente, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) con hidrócloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) siguiendo las instrucciones del proveedor. Se diluye receptor de IL-2 recombinante con acetato sódico 10 mM, pH 5,5, a una concentración de entre 0,5 y 30  $\mu\text{g/ml}$  antes de la inyección a un caudal de 10  $\mu\text{l/minuto}$  para alcanzar aproximadamente 200 a 1.000 (para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R) o de 500 a 3.000 (para el heterodímero botón-en-ochal IL-2R  $\beta\gamma$ ) unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Tras la inyección del receptor de IL-2, se inyectó etanolamina 1 M para bloquear los grupos no reaccionados. Para las mediciones cinéticas, se inyectaron diluciones en serie de tres veces de polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado (intervalo de entre ~0,3 nM y 300 nM) en HBS-EP+ (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, surfactante

P20 al 0,05%, pH 7,4) a 25°C a un caudal de aproximadamente 30 µl/minuto. Se calcularon las tasas de asociación ( $k_{on}$ ) y de disociación ( $k_{off}$ ) utilizando un modelo simple de Langmuir de unión uno a uno (BIACORE® Evaluation Software versión 1.1.1) mediante ajuste simultáneo de los sensogramas de asociación y de disociación. Se calculó la constante de equilibrio de disociación ( $K_D$ ) como la proporción  $k_{off}/k_{on}$ . Ver, por ejemplo, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881, 1999.

La unión de los inmunocombinados de la invención a los receptores de Fc puede determinarse fácilmente mediante, por ejemplo, ELISA, o mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando instrumentos estándares, tales como un instrumento BIAcore (GE Healthcare) y receptores de Fc, tales como los que pueden obtenerse mediante expresión recombinante. Alternativamente, la afinidad de unión de dominios Fc o inmunocombinados que comprenden un dominio Fc para receptores de Fc puede evaluarse utilizando líneas celulares que es conocido que expresan receptores de Fc particulares, tales como células NK que expresan el receptor de FcγIIIa. Según una realización,  $K_D$  se mide mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un aparato BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25°C con receptores de Fc inmovilizados sobre chips CM5. Brevemente, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) con hidrócloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) siguiendo las instrucciones del proveedor. Se diluyó receptor de Fc recombinante con acetato sódico 10 mM, pH 5,5, hasta una concentración de entre 0,5 y 30 µg/ml antes de la inyección a un caudal de 10 µl/minuto para alcanzar aproximadamente 100 a 5.000 unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Tras la inyección del receptor de Fc, se inyectó etanolamina 1 M para bloquear los grupos no reaccionados. Para las mediciones cinéticas, se inyectaron diluciones en serie de tres a cinco veces de inmunocombinado (intervalo de entre ~0,01 nM y 300 nM) en HBS-EP+ (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, surfactante P20 al 0,05%, pH 7,4) a 25°C a un caudal de entre aproximadamente 30 y 50 µl/minuto. Se calcularon las tasas de asociación ( $k_{on}$ ) y de disociación ( $k_{off}$ ) utilizando un modelo simple de Langmuir de unión uno a uno (BIACORE® T100 Evaluation Software versión 1.1.1) mediante ajuste simultáneo de los sensogramas de asociación y de disociación. Se calculó la constante de equilibrio de disociación ( $K_D$ ) como la proporción  $k_{off}/k_{on}$ . Ver, por ejemplo, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881, 1999.

#### Ensayos de actividad

La capacidad de una IL-2 mutante de unirse a receptores de IL-2 puede medirse indirectamente mediante ensayo de los efectos de la activación inmunológica que se producen posteriormente a la unión de receptores.

En un aspecto, se proporcionan ensayos para identificar polipéptidos IL-2 mutantes que presentan actividad biológica. Entre las actividades biológicas se incluyen, por ejemplo, la capacidad de inducir la proliferación de las células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de inducir la señalización de IL-2 en células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de generar interferón (IFN)-γ como citoquina secundaria por parte de las células NK, una capacidad reducida de inducir la elaboración de citoquinas secundarias, particularmente IL-10 y TNF-α por parte de células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC), la capacidad reducida de inducir apoptosis en células T, la capacidad de inducir la regresión tumoral y/o de mejorar la supervivencia, y un perfil de toxicidad reducido, en particular una vasopermeabilidad reducida in vivo. También se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes que presentan dicha actividad biológica in vivo y/o in vitro.

En determinadas realizaciones, se somete a ensayo un polipéptido IL-2 mutante de la invención para dicha actividad biológica. Una diversidad de métodos son bien conocidos de la técnica para determinar las actividades biológicas de IL-2 y también se dan a conocer los detalles de muchos de estos métodos en los Ejemplos adjuntos en la presente memoria. Los Ejemplos proporcionan un ensayo adecuado para someter a ensayo IL-2 mutantes de la invención para su capacidad de generar IFN-γ por parte de células NK. Las células NK en cultivo se incuban con el polipéptido IL-2 mutante o inmunocombinados de la invención y posteriormente se mide mediante ELISA la concentración de IFN-γ en el medio de cultivo.

La señalización inducida por IL-2 induce varias rutas de señalización e implica moléculas de señalización JAK (quinasa Janus) y STAT (transductor de señales y activador de la transcripción). La interacción de IL-2 con las subunidades β y γ de receptores conduce a la fosforilación del receptor y de JAK1 y JAK3, los cuales se encuentran asociados a las subunidades β y γ, respectivamente. A continuación, se asocia STAT5 con el receptor fosforilado y él mismo se encuentra fosforilado en un residuo tirosina crucial. Lo anterior resulta en la disociación de STAT5 del receptor, en la dimerización de STAT5 y en la traslocación de los dímeros de STAT5 al núcleo, en donde promueven la transcripción de genes diana. De esta manera, la capacidad de los polipéptidos IL-2 mutantes de inducir la señalización a través del receptor de IL-2 puede evaluarse, por ejemplo midiendo la fosforilación de STAT5. Se dan a conocer detalles de dicho método en los Ejemplos. Las PBMC se tratan con polipéptidos IL-2 mutantes o inmunocombinados de la invención y se determinan los niveles de STAT5 fosforilado mediante citometría de flujo.

La proliferación de las células T o de las células NK en respuesta a IL-2 puede medirse mediante incubación de las células T o de las células NK aisladas a partir de sangre con polipéptidos IL-2 mutantes o inmunocombinados de la

invención, seguido de la determinación del contenido de ATP en lisados de las células tratadas. Antes del tratamiento, las células T pueden preestimularse con fitohemaglutinina (PHA-M). Este ensayo, descrito en los Ejemplos, permite la cuantificación precisa del número de células viables; sin embargo, existen numerosos ensayos alternativos adecuados conocidos de la técnica (por ejemplo el ensayo de incorporación de [3H]-timidina, ensayos CellTiter-Glo de ATP, ensayo con azul de Alamar, ensayo con WST-1 ó ensayo con MTT).

También se proporciona en los ejemplos un ensayo para la determinación de la apoptosis de las células T y la AICD, en donde se trataron células T con un anticuerpo inductor de apoptosis tras la incubación con los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención y las células apoptóticas se cuantificaron mediante detección de citometría de flujo de la exposición a fosfatidilserina/anexina. Son conocidos de la técnica otros ensayos.

Los efectos de la IL-2 mutante sobre el crecimiento y supervivencia tumorales pueden evaluarse en una diversidad de modelos tumorales animales conocidos de la técnica. Por ejemplo, pueden implantarse xenoinjertos de líneas celulares cancerosas humanas en ratones inmunodeficientes, y tratarse con polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención, tal como se describe en los Ejemplos.

La toxicidad de los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención in vivo puede determinarse basándose en la mortalidad, observaciones durante la vida (síntomas visibles de efectos adversos, por ejemplo el comportamiento, peso y temperatura corporales) y la patología clínica y anatómica (por ejemplo mediciones de los valores químicos de la sangre y/o análisis histopatológicos).

La vasopermeabilidad inducida por el tratamiento con IL-2 puede examinarse en un modelo animal de vasopermeabilidad pretratamiento. En general, el mutante o inmunoconjugado de IL-2 de la invención se administra en un animal adecuado, por ejemplo un ratón, y posteriormente el animal recibe una inyección de una molécula informadora de fuga vascular cuya diseminación a partir de los vasos refleja el grado de permeabilidad vascular. La molécula informadora de fuga vascular preferentemente es suficientemente grande para revelar la permeabilidad con la forma de tipo salvaje de IL-2 utilizada para el pretratamiento. Un ejemplo de una molécula informadora de fuga vascular puede ser una proteína sérica, tal como albúmina o una inmunoglobulina. La molécula informadora de fuga vascular preferentemente se marca detectablemente, tal como con un isótopo radioactivo, con el fin de facilitar la determinación cuantitativa de la distribución de la molécula en los tejidos. La permeabilidad vascular puede medirse para vasos presentes en cualquiera de entre una diversidad de órganos corporales internos, tales como hígado, pulmón y similares, así como en un tumor, incluyendo un tumor que ha sido xenoinjertado. El pulmón es un órgano preferente para medir la vasopermeabilidad de las IL-2 mutantes de longitud completa.

### Composiciones, formulaciones y vías de administración

En un aspecto adicional, la invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados proporcionados en la presente memoria, por ejemplo para la utilización en cualquiera de los métodos terapéuticos indicados posteriormente. En una realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados proporcionados en la presente memoria y un portador farmacéuticamente aceptable. En otra realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados proporcionadas en la presente memoria y por lo menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo tal como se indica posteriormente.

Se proporciona además un método para producir un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado de la invención en una forma adecuada para la administración in vivo, comprendiendo el método: (a) obtener un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado según la invención, y (b) formular el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado con por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable, en el que una preparación de polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado se formula para la administración in vivo.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados disuelta o dispersada en un portador farmacéuticamente aceptable. La expresión "farmacéutica o farmacológicamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que generalmente no resultan tóxicas para los receptores a las dosis y concentraciones utilizadas, es decir, no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción no deseable al administrarse en un animal, tal como, por ejemplo, un ser humano, según resulte apropiado. La preparación de una composición farmacéutica que contiene por lo menos un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado y opcionalmente un ingrediente activo adicional será conocida para el experto en la materia a la luz de la presente exposición, tal como se ejemplifica en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, incorporada en la presente memoria como referencia. Además, para la administración animal (por ejemplo humana), se entenderá que las preparaciones deben cumplir los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza requeridas por la oficina de estándares biológicos de la FDA o las autoridades correspondientes en otros países. Las composiciones preferentes son formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Se describen composiciones de IL-2



ejemplares en las patentes US nº 4.604.377 y nº 4.766.106. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, tampones, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, antioxidantes, proteínas, fármacos, estabilizadores de fármacos, polímeros, geles, ligantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, pigmentos, y materiales similares y combinaciones de los mismos que resultarán conocidos por el experto ordinario en la materia (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289 a 1329, incorporada en la presente memoria como referencia). Salvo en la medida en que cualquier portador convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se encuentra contemplada su utilización en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La composición puede comprender diferentes tipos de portador dependiendo de si debe administrarse en forma sólida, líquida o de aerosol, y de si necesita ser estéril para vías de administración tales como la inyección. Los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la presente invención (y cualquier agente terapéutico adicional) pueden administrarse por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intraesplénica, intrarrenal, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, intravaginal, intrarrectal, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, mucosa, intrapericárdica, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, mediante inhalación (por ejemplo inhalación de aerosol), inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada bañando las células directamente, mediante un catéter, mediante un lavado, en cremas, en composiciones lipídicas (por ejemplo liposomas) o mediante otro método o cualquier combinación de los anteriores, tal como será conocido por el experto ordinario en la materia (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, incorporada como referencia en la presente memoria). La administración parenteral, en particular la inyección intravenosa, se utiliza más comúnmente para administrar moléculas de polipéptido tales como los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención.

Entre las composiciones parenterales se incluyen aquellas diseñadas para la administración mediante inyección, por ejemplo subcutánea, intradérmica, intralesional, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal o intraperitoneal. Para la inyección, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles, tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica. La solución puede contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizadores y/o dispersantes. Alternativamente, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden encontrarse en forma de polvos para la constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes de la utilización. Las soluciones inyectables estériles se preparan mediante la incorporación de los polipéptidos IL-2 o inmunoconjugados de la invención en la cantidad necesaria en el solvente apropiado con algunos de los demás ingredientes indicados posteriormente, según resulte necesario. La esterilidad puede conseguirse fácilmente mediante, por ejemplo, filtración a través de membranas de filtración estéril. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los demás ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los métodos preferentes de preparación son las técnicas de secado al vacío o de secado por congelación, que proporcionan unos polvos del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de un medio líquido previamente esterilizado mediante filtración del mismo. El medio líquido debe tamponarse convenientemente, si resulta necesario, y el diluyente líquido en primer lugar debe hacerse isotónica antes de la inyección, con suficiente solución salina o glucosa. La composición debe ser estable bajo las condiciones de preparación y almacenamiento, y de esta manera conservarse frente a la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Se apreciará que la contaminación por endotoxinas debe mantenerse como mínimo a un nivel seguro, por ejemplo a menos de 0,5 ng/mg de proteína. Entre los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados se incluyen, aunque sin limitación: tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenes tales como metilparabén o propilparabén, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiónes formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo complejos de Zn-proteína) y/o surfactantes no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG). Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener compuestos que incrementen la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, dextrano o similares. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores o agentes adecuados que incrementen la solubilidad de los compuestos, permitiendo la preparación de soluciones altamente concentradas. Además, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos en

forma de suspensiones aceitosas para inyección apropiadas. Entre los vehículos o solventes lipofílicos adecuados se incluyen aceites grasos, tales como aceite de sésamo o ésteres sintéticos de ácidos grasos, tales como ramificaciones de etilo o triglicéridos, o liposomas.

5 Los ingredientes activos también pueden encapsularse en microcápsulas preparadas mediante, por ejemplo, técnicas de coacervado o mediante polimerización interfacial, por ejemplo microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y poli(metilmacrilato), respectivamente, en sistemas de administración coloidales de administración farmacológica (por ejemplo liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se dan a conocer en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990. Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida. Entre los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida se incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen el polipéptido, encontrándose dichas matrices en forma de artículos conformados, por ejemplo películas o microcápsulas. En realizaciones particulares, puede inducirse la absorción prolongada de una composición inyectable mediante la utilización en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Además de las composiciones indicadas anteriormente, los inmunoconjugados también pueden formularse en forma de una preparación de depósito. Dichas formulaciones de acción prolongada pueden administrarse mediante implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. De esta manera, por ejemplo, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados (por ejemplo en forma de una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo una sal poco soluble.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención pueden prepararse mediante procedimientos convencionales de mezcla, disolución, emulsificación, encapsulado, atrapamiento o liofilizado. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de modo convencional utilizando uno o más portadores, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de las proteínas en preparaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente. La formulación correcta depende de la vía de administración elegida.

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden formularse en una composición en un ácido o base libre, en forma neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales que conservan sustancialmente la actividad biológica del ácido o base libre. Entre ellas se incluyen las sales de adición de ácido, por ejemplo aquellas formadas con los grupos amino libres de una composición proteica, o que se forman con ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, los ácidos hidroclicóricos o fosfóricos, o ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, oxálico, tartárico o mandélico. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse a partir de bases inorgánicas, tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o hierro, o bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína. Las sales farmacéuticas tienden a ser más solubles en solventes acuosos y otros solventes próticos que las formas de base libre correspondientes.

#### 40 Métodos y composiciones terapéuticos

Puede utilizarse en métodos terapéuticos cualquiera de los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados proporcionados en la presente memoria. Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención pueden utilizarse en forma de agentes inmunoterapéuticos, por ejemplo en el tratamiento de cánceres.

Para la utilización en métodos terapéuticos, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención se formulan, dosifican y administran de un modo consistente con la buena práctica médica. Entre los factores para la consideración en el presente contexto se incluyen el trastorno particular bajo tratamiento, el mamífero particular bajo tratamiento, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los profesionales médicos.

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención resultan útiles en el tratamiento de estados de enfermedad en los que la estimulación del sistema inmunológico del huésped resulta beneficioso, en particular condiciones en las que resulta deseable una respuesta inmunológica celular incrementada. Entre ellas pueden incluirse estados de enfermedad en los que la respuesta inmunológica del huésped resulta insuficiente o deficiente. Los estados de enfermedad para los que pueden administrarse polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención comprenden, por ejemplo, un tumor o infección en el que una respuesta inmunológica celular sería un mecanismo crítico para la inmunidad específica. Entre los estados de enfermedad específicos para los que pueden utilizarse los IL-2 mutantes de la presente invención se incluyen el cáncer, específicamente el carcinoma de células renales o el melanoma, la deficiencia inmunológica, específicamente en pacientes VIH-positivos, los pacientes inmunosuprimidos, la infección crónica y similares. Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la

invención pueden administrarse per se o en cualquier composición farmacéutica adecuada.

5 En un aspecto, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización como medicamento. En aspectos adicionales, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización en el tratamiento de una enfermedad. En determinadas realizaciones, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización en un método de tratamiento. En una realización, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado tal como se indica en la presente memoria para la utilización en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo. 10 En determinadas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en un método de tratamiento de un individuo que presenta una enfermedad, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva del polipéptido IL-2 mutante o del inmunoconjugado. En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo. En una realización preferente, la enfermedad es cáncer. En determinadas realizaciones, el método comprende además la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un agente terapéutico 15 adicional, por ejemplo un agente anticáncer en el caso de que la enfermedad que debe tratarse sea cáncer. En realizaciones adicionales, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en la estimulación del sistema inmunológico. En determinadas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en un método de estimulación del sistema inmunológico en un individuo, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad efectiva del polipéptido IL-2 mutante o del inmunoconjugado con el fin de estimular el sistema inmunológico. Un "individuo" según cualquiera de las realizaciones anteriores es un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión "estimulación del sistema inmunológico" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede incluir uno o más cualesquiera de entre un incremento general de la función inmunológica, un incremento de la actividad de las células T, un incremento de la actividad de las células B, una restauración de la función linfocitaria, un incremento de la expresión de los receptores de IL-2, un incremento de la capacidad de respuesta de las células T, un incremento de la actividad de las células asesinas naturales o de la actividad de las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), y similares. 25

30 En un aspecto adicional, la invención proporciona la utilización de un polipéptido IL-2 mutante o de un inmunoconjugado de la invención en la fabricación o preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo. En una realización, el medicamento está destinado a la utilización en un método de tratamiento de una enfermedad, que comprende administrar en un individuo que presenta la enfermedad, una cantidad terapéuticamente efectiva del medicamento. En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo. En una realización preferente, la enfermedad es 35 cáncer. En una de dichas realizaciones, el método comprende además la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo un agente anticáncer en el caso de que la enfermedad que debe tratarse sea cáncer. En una realización adicional, el medicamento está destinado a estimular el funcionamiento del sistema inmunológico. En una realización adicional, el medicamento está destinado a la utilización en un método de estimulación del sistema inmunológico en un individuo, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad del medicamento efectiva para estimular el funcionamiento del sistema inmunológico. Un "individuo" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión "estimulación del sistema inmunológico" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede incluir uno o más cualesquiera de entre un incremento general de la función inmunológica, un incremento de la actividad de las células T, un incremento de la actividad de las células B, 45 una restauración de la función linfocitaria, un incremento de la expresión de los receptores de IL-2, un incremento de la capacidad de respuesta de las células T, un incremento de la actividad de las células asesinas naturales o de la actividad de las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), y similares.

50 En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad en un individuo, comprendiendo la administración en dicho individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado de la invención. En una realización se administra una composición en dicho individuo, comprendiendo el polipéptido IL-2 mutante o el inmunoconjugado de la invención en una forma farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo. En una realización preferente, la enfermedad es cáncer. En determinadas realizaciones, el método comprende además la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo un agente anticáncer en el caso de que la enfermedad que debe tratarse sea cáncer. En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para estimular el sistema inmunológico en un individuo, comprendiendo la administración en dicho individuo de una cantidad efectiva de un polipéptido IL-2 mutante o de un inmunoconjugado con el fin de estimular el sistema inmunológico. Un "individuo" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión "estimulación del sistema inmunológico" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede incluir uno o más cualesquiera de entre un incremento general de la función inmunológica, un incremento de la actividad de las células T, un incremento de la actividad de las células B, una restauración de la función linfocitaria, un incremento de la expresión 60

de los receptores de IL-2, un incremento de la capacidad de respuesta de las células T, un incremento de la actividad de las células asesinas naturales o de la actividad de las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), y similares.

- 5 Se entiende que puede llevarse a cabo cualquiera de los métodos terapéuticos anteriormente indicados utilizando un inmunoconjugado de la invención en lugar de un polipéptido IL-2 mutante o además del mismo.

En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo, preferentemente cáncer. Entre los ejemplos no limitativos de cánceres se incluyen cáncer de vejiga, cáncer cerebral, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer pulmonar, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer uterino, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer esofágico, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer gástrico, cáncer de próstata, leucemia, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer óseo y cáncer renal. Entre otros trastornos de la proliferación celular que pueden tratarse utilizando un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, neoplasmas localizados en: abdomen, huesos, mamas, sistema digestivo, hígado, páncreas, peritoneo, glándulas endocrinas (adrenal, paratiroides, pituitaria, testículos, ovario, timo, tiroides), ojo, cabeza y cuello, sistema nervioso (central y periférico), sistema linfático, pelvis, piel, tejidos blandos, bazo, región torácica y sistema urogenital. También se encuentran incluidas las condiciones o lesiones precancerosas y las metástasis de cáncer. En determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de células renales, cáncer de piel, cáncer pulmonar, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer cerebral y cáncer de cabeza y cuello. De manera similar, otros trastornos de la proliferación celular también pueden tratarse con los polipéptidos IL2 mutantes e inmunoconjugados de la presente invención. Entre los ejemplos de dichos trastornos de la proliferación celular se incluyen, aunque sin limitación: hipergammaglobulinemia, trastornos linfoproliferativos, paraproteinemias, púrpura, sarcoidosis, síndrome de Sézary, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad de Gaucher, histiocitosis y cualquier otra enfermedad de proliferación celular, aparte de neoplasias, localizadas en un sistema orgánico de los indicados anteriormente. En otra realización, la enfermedad se relaciona con la autoinmunidad, el rechazo del trasplante, las respuestas inmunológicas post-traumáticas y las enfermedades infecciosas (por ejemplo por VIH). Más concretamente, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden utilizarse para eliminar las células implicadas en trastornos inmunológicos mediados por células, incluyendo el linfoma; la autoinmunidad, el rechazo del trasplante, la enfermedad del injerto contra el huésped, la isquemia y el ictus. El experto en la materia reconocerá fácilmente que en muchos casos los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados pueden no proporcionar una curación sino únicamente un beneficio parcial. En algunas realizaciones, también se considera terapéuticamente beneficioso un cambio fisiológico que presente algún beneficio. De esta manera, en algunas realizaciones, una cantidad de polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado que proporcione un cambio fisiológico se considera una "cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz". El sujeto, paciente o individuo que necesita tratamiento típicamente es un mamífero, más concretamente un ser humano.

Los inmunoconjugados indicados en la presente memoria también resultan útiles como reactivos diagnósticos. La unión de un inmunoconjugado a un determinante antigénico puede detectarse fácilmente mediante la utilización de un anticuerpo secundario específico para el polipéptido IL-2. En una realización, el anticuerpo secundario y el inmunoconjugado facilitan la detección de la unión del inmunoconjugado a un determinante antigénico situado sobre una superficie celular o de tejido.

En algunas realizaciones, se administra en una célula una cantidad efectiva de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados indicados en la presente memoria. En otras realizaciones, se administra en un individuo para el tratamiento de una enfermedad una cantidad terapéuticamente eficaz de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención.

Para la prevención o tratamiento de una enfermedad, la dosis apropiada de un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de la invención (en el caso de que se utilice solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad que debe tratarse, de la vía de administración, del peso corporal del paciente, del tipo de polipéptido (por ejemplo IL-2 no conjugada o inmunoconjugado), de la severidad y curso de la enfermedad, de si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, de las intervenciones terapéuticas concurrentes o previas, del historial clínico del paciente y de la respuesta al polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado y del criterio del médico responsable. El practicante responsable de la administración podrá, en cualquier caso, determinar la concentración de ingrediente o ingredientes activos en una composición y la dosis o las dosis apropiadas para el sujeto individual. En la presente memoria se encuentran contemplados diversos programas de dosificación, incluyendo, aunque sin limitarse a ellas, la administración individual o múltiple en diversos puntos temporales, la administración de bolo y la infusión de pulsos.

Una única administración de IL-2 no conjugado puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 50.000 IU/kg y aproximadamente 1.000.000 IU/kg, más típicamente aproximadamente 600.000 IU/kg de IL-2. Esta administración puede repetirse varias veces al día (por ejemplo 2-3x), durante varios días (por ejemplo entre

aproximadamente 3 y 5 días consecutivos) y después puede repetirse una o más veces tras un periodo de reposo (por ejemplo entre aproximadamente 7 y 14 días). De esta manera, una cantidad terapéuticamente efectiva puede comprender únicamente una sola administración o muchas administraciones durante un periodo de tiempo (por ejemplo entre aproximadamente 20 y 30 administraciones individuales de aproximadamente 600.000 IU/kg de IL-2 cada una administradas durante un periodo aproximado de entre 10 y 20 días). En el caso de que se administre en forma de inmunoc conjugado, una cantidad terapéuticamente efectiva del polipéptido IL-2 mutante puede ser inferior que la del polipéptido IL-2 mutante no conjugado.

De manera similar, el inmunoc conjugado se administra convenientemente en el paciente de una vez o en una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y severidad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo 0,1 mg/kg a 10 mg/kg) de inmunoc conjugado puede ser una posible dosis inicial para la administración en el paciente, por ejemplo en una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosis diaria típica puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 1 µg/kg y 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores indicados anteriormente. Para las administraciones repetidas a lo largo de varios días o más, dependiendo de la condición, el tratamiento generalmente se prolonga hasta que se produce la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosis ejemplar del inmunoc conjugado se encontraría comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 0,005 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg. En otros ejemplos no limitativos, una dosis también puede comprender entre aproximadamente 1 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 5 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 10 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 50 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 100 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 200 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 350 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 500 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 1 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 5 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 10 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 50 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 100 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 200 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 350 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 500 miligramo/kg de peso corporal y aproximadamente 1.000 mg/kg de peso corporal o más en cada administración, y cualquier intervalo derivable a partir de los mismos. En ejemplo no limitativos de un intervalo derivable a partir de los números indicados en la presente memoria, puede administrarse un intervalo de entre aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de entre aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, etc., basándose en los números indicados anteriormente. De esta manera, pueden administrarse en el paciente una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg ó 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas). Dichas dosis pueden administrarse intermitentemente, por ejemplo cada semana o cada tres semanas (por ejemplo de manera que el paciente reciba entre aproximadamente dos y aproximadamente veinte, o por ejemplo aproximadamente seis dosis del inmunoc conjugado). También puede administrarse una dosis inicial de carga más elevada, seguido de una o más dosis más bajas. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden resultar útiles. Se realiza fácilmente un seguimiento del progreso de dicha terapia mediante técnicas y ensayos convencionales.

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoc conjugados de la invención generalmente se utilizan en una cantidad efectiva para conseguir el propósito pretendido. Para la utilización en el tratamiento o prevención de una condición de enfermedad, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoc conjugados de la invención, o composiciones farmacéuticas de los mismos, se administran o se aplican en una cantidad terapéuticamente efectiva. La determinación de una cantidad terapéuticamente efectiva se encuentra perfectamente comprendida dentro de los conocimientos del experto en la materia, especialmente a la luz de la exposición detallada proporcionada en la presente memoria.

Para la administración sistémica, puede estimarse inicialmente una dosis terapéuticamente efectiva a partir de ensayos in vitro, tales como los ensayos de cultivo celular. A continuación, puede formularse una dosis en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentraciones circulantes que incluye la IC50 según determinación en cultivo celular. Dicha información puede utilizarse para determinar con mayor exactitud las dosis útiles en el ser humano.

Las dosis iniciales también pueden estimarse a partir de datos in vivo, por ejemplo modelos animales, utilizando técnicas que son bien conocidas de la técnica. El experto ordinario en la materia podrá optimizar fácilmente la administración en el ser humano basándose en datos obtenidos con animales.

La cantidad e intervalo de la dosis pueden ajustarse individualmente con el fin de proporcionar niveles plasmáticos de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoc conjugados que resulten suficientes para mantener el efecto terapéutico. Las dosis habituales para la administración en pacientes mediante inyección se encuentran comprendidas entre aproximadamente 0,1 y 50 mg/kg/día, típicamente entre aproximadamente 0,5 y 1 mg/kg/día. Los niveles plasmáticos terapéuticamente efectivos pueden alcanzarse mediante la administración de múltiples dosis cada día. Los niveles plasmáticos pueden medirse mediante, por ejemplo, HPLC.

En los casos de administración local o incorporación selectiva, la concentración local efectiva de los

inmunoconjugados puede no encontrarse relacionada con la concentración plasmática. El experto en la materia podrá optimizar las dosis locales terapéuticamente efectivas sin necesidad de experimentación indebida.

Una dosis terapéuticamente efectiva de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados indicados en la presente memoria generalmente proporcionará un beneficio terapéutico sin causar toxicidad sustancial. La toxicidad y la eficacia terapéutica de una IL-2 mutante o inmunoconjugado pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivo celular y con animales experimentales (ver, por ejemplo, los Ejemplos 8 y 9). Pueden utilizarse ensayos de cultivo celular y estudios con animales para determinar la LD<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50% de una población) y la ED<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente efectiva en 50% de una población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y los efectos terapéuticos es el índice terapéutico, que puede expresarse como la proporción LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Los mutantes e inmunoconjugados de IL-2 que muestran índices terapéuticos grandes resultan preferentes. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante o el inmunoconjugado según la presente invención muestran un elevado índice terapéutico. Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivo celular y de estudios con animales pueden utilizarse para formular un intervalo de dosis adecuado para la utilización en el ser humano. La dosis se encuentra comprendida preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluye la ED<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de una diversidad de factores, por ejemplo la forma de dosificación utilizada, la vía de administración utilizada, la condición del sujeto, y similares. La formulación exacta, la vía de administración y la dosis pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la condición del paciente (ver, por ejemplo, Fingl et al., en: The Pharmacological Basis of Therapeutics, capítulo 1, página 1.

El médico responsable de los pacientes tratados con mutantes o inmunoconjugados de IL-2 de la invención conocerá cómo y cuándo terminar, interrumpir o ajustar la administración debido a la toxicidad, la disfunción orgánica y similares. A la inversa, el médico responsable también conocerá cómo ajustar el tratamiento a niveles más altos en el caso de que la respuesta clínica no sea adecuada (excluyendo toxicidades). La magnitud de la dosis administrada durante el control del trastorno de interés variará según la severidad de la condición que debe tratarse, la vía de administración y similares. La severidad de la condición puede evaluarse en parte, por ejemplo, mediante métodos de evaluación pronóstica estándares. Además, la dosis y quizá la frecuencia de las dosis también variarán según la edad, peso corporal y respuesta del paciente individual.

La dosis terapéutica máxima de un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado que comprende dicho polipéptido puede incrementarse respecto a la utilizada para la IL-2 de tipo salvaje o para un inmunoconjugado que comprende IL-2 de tipo salvaje, respectivamente.

### Otros agentes y tratamientos

Los polipéptidos IL-2 mutantes y los inmunoconjugados según la invención pueden administrarse en combinación con uno o más otros agentes dentro de una terapia. Por ejemplo, puede coadministrarse un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado de la invención con por lo menos un agente terapéutico adicional. La expresión "agente terapéutico" comprende cualquier agente administrado para tratar un síntoma o enfermedad en un individuo que necesita dicho tratamiento. Dicho agente terapéutico adicional puede comprender cualesquiera ingredientes activos adecuados para la indicación particular bajo tratamiento, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no presenten efectos adversos entre sí. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico adicional es un agente inmunomodulador, un agente citostático, un inhibidor de la adhesión celular, un agente citotóxico, un activador de la apoptosis celular, o un agente que incrementa la sensibilidad de las células frente a los inductores apoptóticos. En una realización particular, el agente terapéutico adicional es un agente anticáncer, por ejemplo un disruptor de microtúbulos, un antimetabolito, un inhibidor de topoisomerasa, un intercalante de ADN, un agente alquilante, una terapia hormonal, un inhibidor de quinasa, un antagonista de receptor, un activador de la apoptosis de células tumorales o un agente antiangiogénico.

Dichos otros agentes se encuentran convenientemente presentes en combinación en cantidades que resultan efectivas para el propósito pretendido. La cantidad efectiva de dichos otros agentes depende de la cantidad de polipéptido IL-2 mutante o de inmunoconjugado utilizado, del tipo de trastorno o tratamiento y de otros factores comentados anteriormente. Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados se utilizan generalmente a las mismas dosis y por vías de administración indicadas en la presente memoria, o de entre aproximadamente 1% y 99% de las dosis indicadas en la presente memoria, o en cualquier dosis y por cualquier vía que se determine empíricamente/clínicamente que resulta apropiada.

Dichas terapias de combinación indicadas anteriormente comprenden la administración combinada (en la que se incluyen dos o más agentes terapéuticos en la misma formulación o en formulaciones separadas), y la administración separada, en cuyo caso la administración del polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de la invención puede producirse antes, simultáneamente y/o después de la administración del agente terapéutico y/o adyuvante adicionales. Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención también pueden

utilizarse en combinación con terapia de radiación.

#### Artículos fabricados

5 En otro aspecto de la exposición, se proporciona un artículo fabricado que contiene materiales que resultan útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de los trastornos indicados anteriormente. El artículo fabricado comprende un recipiente y una etiqueta o prospecto en el paquete sobre el recipiente o asociado al mismo. Entre los recipientes adecuados se incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, bolsas de solución I.V., etc. Los recipientes pueden formarse a partir de una diversidad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente  
10 contiene una composición que resulta, por sí misma o en combinación con otra composición, efectiva para tratar, prevenir y/o diagnosticar la condición, y puede presentar una abertura de acceso estéril (por ejemplo el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que presente un tapón perforable con una aguja de inyección hipodérmica). Por lo menos un agente activo en la composición es un polipéptido IL-2 mutante de la invención. La etiqueta o prospecto en el paquete indica que la composición se utiliza para el tratamiento de la condición de  
15 elección. Además, el artículo fabricado puede comprender: (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un polipéptido IL-2 mutante de la invención, y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un agente citotóxico adicional u otro agente terapéutico. El artículo fabricado en la presente realización de la invención puede comprender además un prospecto en el paquete que indique que las composiciones pueden utilizarse para tratar una condición particular. Alternativamente, o adicionalmente, el artículo fabricado puede comprender adicionalmente  
20 un segundo (o tercer) recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWF1), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y para el usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

25 Se entiende que cualquiera de los artículos fabricados anteriormente indicados puede incluir un inmunoconjugado de la invención en sustitución o adicionalmente a un polipéptido IL-2 mutante.

#### Breve descripción de las figuras

30 Figura 1. Representación esquemática de los formatos de inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab (A) e IgG-IL-2 (B), que comprenden polipéptido IL-2 mutante.

35 Figura 2. Purificación del constructo desnudo de tipo salvaje de IL-2. (A) Cromatograma de la purificación con etiquetas His para la IL-2 desnuda de tipo salvaje, (B) SDS-PAGE de proteína purificada (Bis-Tris al 8-12% (NuPage, Invitrogen), tampón de migración MES).

40 Figura 3. Purificación del constructo desnudo de tipo salvaje de IL-2. (A) Cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño para la IL-2 de tipo salvaje, (B) SDS-PAGE de proteína purificada (Bis-Tris al 8-12% (NuPage, Invitrogen), tampón de migración MES).

45 Figura 4. Cromatografía analítica de exclusión por tamaño de la IL-2 de tipo salvaje determinada en una columna Superdex 75 10/300 GL. El grupo 1 comprendía 74% de la especie de 23 kDa y 26% de la especie de 20 kDa; el grupo 2 comprendía 40% de la especie de 22 kDa y 60% de la especie de 20 kDa.

Figura 5. Purificación del constructo desnudo de IL-2 mutante cuádruple. (A) Cromatograma de la purificación con etiquetas His para la IL-2 cuádruple mutante, (B) SDS-PAGE de proteína purificada (Bis-Tris al 8-12% (NuPage, Invitrogen), tampón de migración MES).

50 Figura 6. Purificación del constructo desnudo de IL-2 mutante cuádruple. (A) Cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño para la IL-2 mutante cuádruple, (B) SDS-PAGE de proteína purificada (Bis-Tris al 8-12% (NuPage, Invitrogen), tampón de migración MES).

55 Figura 7. Cromatografía analítica de exclusión por tamaño de la IL-2 mutante cuádruple determinada en una columna Superdex 75 10/300 GL (grupo 2, 20 kDa).

Figura 8. Unión simultánea a IL-2R y a FAP humana de Fab-IL-2-Fab basado en 29b11 con diana en FAP, que comprendía IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple. (A) Montaje del ensayo de SPR; (B) sensograma de SPR.

60 Figura 9. Inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  por parte de células NK92 por parte de Fab-IL-2-Fab basada en 4G8 con diana en FAP que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante, en comparación con proleuquina, en solución.

Figura 10. Inducción de la liberación de células NK aisladas (parte inferior) por parte de Fab-IL-2-Fab basada en 4G8

con diana en FAP que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante, en comparación con proleuquina, en solución.

Figura 11. Inducción de la proliferación de células T CD3+ por parte de Fab-IL-2-Fab basada en 4G8 con diana en FAP que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante, en comparación con proleuquina, en solución.

5 Figura 12. Inducción de la muerte celular inducida por activación (AICD) de células T sobreestimadas, por parte de Fab-IL-2-Fab basada en 4G8 con diana en FAP que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante, en comparación con proleuquina, en solución.

10 Figura 13. Ensayo FACS Phospho-STAT5 en solución con Fab-IL-2-Fab basado en 4G8 con diana en FAB que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, en comparación con proleuquina, en solución. (A) células T reguladoras (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>); (B) células T CD8<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>); (C) células T CD4<sup>+</sup> (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>+</sup>); (D) células NK (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>).

15 Figura 14. Purificación del inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1 con diana en FAP. (A) Perfil de elución de la columna de proteína G. (B) Perfil de elución de la columna de exclusión por tamaño Superdex 200. (C) SDS-PAGE Novex con Tris-glicina al 4-20% del producto final con muestra no reducida y muestra reducida.

20 Figura 15. Purificación del inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en 4G8 con diana en FAP. (A) Perfil de elución de la columna de proteína A. (B) Perfil de elución de la columna de exclusión por tamaño Superdex 200. (C) Mini-gel NuPAGE de Novex con Bis-Tris (Invitrogen), tampón de migración MOPS del producto final con muestra no reducida y muestra reducida.

25 Figura 16. Purificación del inmunoconjugado Fab-IL2QM-Fab con diana en MHLG1 KV9 MCSP. (A) Perfil de elución de la columna de proteína A; B) perfil de elución de la columna Superdex 200 de exclusión por tamaño. C) Mini-gel NuPAGE de Novex con Bis-Tris (Invitrogen), tampón de migración MOPS del producto final con muestra no reducida y muestra reducida.

30 Figura 17. Unión a diana de constructos Fab-IL-2-Fab en células HEK 293 humanas con FAP.

Figura 18. Unión a diana de constructos Fab-IL-2-Fab en células HEK 293 humanas con FAP.

35 Figura 19. Especificidad de unión de los constructos Fab-IL-2-Fab determinada en células HEK 293 humanas con DPPIV y células HEK 293 falsamente transfectadas. A la derecha se muestra la unión de un anticuerpo específico de DPPIV (CD26).

Figura 20. Análisis de la internalización de FAP tras la unión de los constructos Fab-IL-2-Fab a FAP en fibroblastos GM05389.

40 Figura 21. Liberación de IFN- $\gamma$  por células NK92 en solución inducida por IL-2.

Figura 22. Liberación de IFN- $\gamma$  por células NK92 en solución inducida por IL-2.

45 Figura 23. Proliferación de células NK92 en solución inducida por IL-2.

Figura 24. Evaluación de Fab-IL-2-Fab clones 28H1 vs. 29B11 vs. 4G8 en un ensayo de fosforilación STAT5 con PBMC en solución. (A) células NK (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>); (B) células T CD8<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>); (C) células T CD4<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>+</sup>); (D) células T reguladoras (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>).

50 Figura 25. Eficacia de los inmunoconjugados Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 con diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 en la línea celular ACHN de adenocarcinoma humano de células renales.

Figura 26. Eficacia de los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 con diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 en la línea celular LLC1 del carcinoma pulmonar de Lewis de ratón.

55 Figura 27. Eficacia de los inmunoconjugados Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 con diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 en la línea celular LLC1 del carcinoma pulmonar de Lewis de ratón.

60 Figura 28. Imágenes a baja magnificación (100x) de pulmones de ratón tratados con control de vehículo (A) ó 9  $\mu$ g/g peso húmedo de IL-2 (B) o IL-2 qm (C). Los pulmones de ratones tratados con 9  $\mu$ g/g peso húmedo de IL-2 muestran infiltrados mononucleares vasocéntricos que se ha desplazado al interior de los espacios alveolares. También se observa edema y hemorragia. Se observan infiltrados marginales en los ratones tratados con IL-2 qm en torno a algunos vasos.



- Figura 29. Imágenes de mayor magnificación (200x) de los pulmones mostrados en la figura 28. La marginación e infiltración de células mononucleares al interior y en torno a los vasos sanguíneos es más severa en los ratones tratados con IL-2 wt (A) que en ratones tratados con IL-2 qm (B y C).
- 5 Figura 30. Imágenes a baja magnificación (100x) de hígados de ratones tratados con control de vehículo (A) ó 9 µg/g peso húmedo de IL-2 (B) o IL-2 qm (C). Se observa infiltración vasocéntrica en ratones tratados con IL-2 wt.
- Figura 31. Secreción de IFN-γ por parte de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 24 (A) ó 48 horas (B).
- 10 Figura 32. Proliferación de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 48 horas.
- Figura 33. Proliferación de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 48 horas.
- 15 Figura 34. Proliferación de las células NK tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.
- 20 Figura 35. Proliferación de células T CD4 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.
- Figura 36. Proliferación de células T CD8 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.
- 25 Figura 37. Proliferación de células NK (A), células T CD4 (B) y células T CD8 (C) tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 o proleuquina durante 6 días.
- Figura 38. Fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje producida en el propio laboratorio e IL-2 mutante cuádruple.
- 30 Figura 39. Fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IgG-IL-2 que comprende IL-2 de tipo salvaje o IgG-IL-2 que comprende IL-2 mutante cuádruple.
- 35 Figura 40. Supervivencia de ratones Black 6 tras la administración (una vez al día durante siete días) de diferentes dosis de inmunoconjugados de IL-2 que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple.
- 40 Figura 41. Concentraciones en suero de inmunoconjugados de IL-2 tras una única administración i.v. de constructos IgG-IL-2 con diana en FAP (A) y sin diana (B) que comprendían IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm).
- Figura 42. Concentraciones en suero de inmunoconjugados de IL-2 tras una única administración i.v. de constructos Fab-IL-2-Fab sin diana que comprendían IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm).
- 45 Figura 43. Purificación de IL-2 mutante cuádruple. (A) Cromatografía de iones metálicos inmovilizados, (B) cromatografía de exclusión por tamaño, (C) SDS-PAGE bajo condiciones no reductoras (gel NuPAGE de Novex con Bis-Tris (Invitrogen), tampón de migración MES), (D) cromatografía analítica de exclusión por tamaño (columna Superdex 75 10/300 GL).
- 50 Figura 44. Proliferación de células T CD8 (A) y CD4 (B) preactivadas tras una incubación de seis días con diferentes inmunoconjugados de IL-2.
- Figura 45. Muerte celular inducida por activación de células T CD3+ tras una incubación de seis días con diferentes inmunoconjugados de IL-2 y tratamiento durante la noche con anticuerpo anti-Fas.
- 55 Figura 46. Purificación del inmunoconjugado IgG-IL-2 mutante cuádruple (qm) basado en 4G8 con diana en FAP. A) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de afinidad de proteína A. B) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de exclusión por tamaño. C) SDS-PAGE analítica (minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris, Invitrogen, tampón de migración MOPS) del producto final. D) Cromatografía analítica de exclusión por tamaño del producto final en una columna Superdex 200 (contenido de monómero: 97%).
- 60

Figura 47. Purificación del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 28H1 con diana en FAP. A) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de afinidad de proteína A. B) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de exclusión por tamaño. C) SDS PAGE analítica (reducida: minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris, Invitrogen, tampón de migración MOPS; no reducida: NuPAGE Tris-acetato, Invitrogen, tampón de migración Tris-acetato) del producto final. D) Cromatografía analítica de exclusión por tamaño del producto final en una columna Superdex 200 (contenido de monómero: 100%).

Figura 48. Unión del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP a FAP humana expresada sobre células HEK 293 transfectadas establemente según medición mediante FACS, en comparación con el constructo Fab-IL-2 qm-Fab correspondiente.

Figura 49. Liberación de interferón (IFN)- $\gamma$  sobre células NK92 inducida por el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP, en solución, en comparación con el constructo Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1.

Figura 50. Detección de STAT5 fosforilado mediante FACS en diferentes tipos celulares tras la estimulación durante 20 minutos con inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP, en solución, en comparación con los constructos Fab-IL-2-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1, así como con proleuquina. A) células NK (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>); B) células T CD8<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>); C) células T CD4<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>+</sup>); D) células T reguladoras (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>).

## Ejemplos

A continuación se proporcionan ejemplos de métodos y composiciones de la invención. Se entiende que pueden ponerse en práctica diversas otras realizaciones, dada la descripción general proporcionada anteriormente.

### Ejemplo 1

#### Métodos generales

#### Técnicas de ADN recombinante

Se utilizaron métodos estándares para manipular el ADN, tales como los descritos en Sambrook, J. et al., *Molecular cloning: A laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Los reactivos biológicos moleculares se utilizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Se proporciona información general sobre secuencias de nucleótidos de cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulinas humanas en: Kabat E.A. et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5a edición, NIH publicación n° 91-3242.

#### Secuenciación de ADN

Se determinaron las secuencias del ADN mediante secuenciación de doble cadena.

#### Síntesis génica

Los segmentos génicos deseados, en donde resultaban necesarios, se generaron mediante PCR utilizando moldes apropiados o fueron sintetizados por Geneart AG (Regensburg, Alemania) a partir de oligonucleótidos sintéticos y productos de PCR mediante síntesis génica automática. En los casos en los que no se disponía de la secuencia génica exacta, se diseñaron cebadores oligonucleótidos basándose en secuencias de los homólogos más próximos y los genes se aislaron mediante RT-PCR a partir de ARN originado del tejido apropiado. Los segmentos génicos flanqueados por sitios de corte único de endonucleasa de restricción se clonaron en los vectores de clonación/secuenciación estándares. El plásmido de ADN se purificó a partir de bacterias transformadas y la concentración se determinó mediante espectroscopía de UV. La secuencia del ADN de los fragmentos génicos subclonados se confirmó mediante secuenciación de ADN. Se diseñaron segmentos génicos con sitios de restricción adecuados para permitir la subclonación en los vectores de expresión respectivos. Todos los constructos se diseñaron con una secuencia 5'-terminal de ADN codificante de un péptido líder que presentaba como diana proteínas para la secreción en células eucarióticas. Las secuencias SEC ID n° 263 a n° 273 proporcionan péptidos líder ejemplares y secuencias polinucleótidas codificantes de los mismos.

#### Preparación de fusiones subunidad $\beta$ y de IL-2R-Fc y fusión de subunidad $\alpha$ de IL-2R-Fc

Para estudiar la afinidad de unión de los receptores de IL-2, se generó una herramienta que permitía la expresión de un receptor de IL-2 heterodimérico; la subunidad  $\beta$  del receptor de IL-2 se fusionó con una molécula de Fc que se había manipulado para heterodimerizarse (Fc(ojal)) (ver SEC ID n° 274 y n° 275) utilizando la tecnología de "botón-en-ojal" (Merchant et al., *Nat. Biotech.* 16, 677-681, 1998). La subunidad  $\gamma$  del receptor de IL-2 seguidamente se

fusionó con la variante de Fc(botón) (ver SEC ID nº 276 y nº 277), que se heterodimerizó con Fc(ojal). Esta proteína de fusión de Fc heterodimérica seguidamente se utilizó como sustrato para analizar la interacción IL-2/receptor de IL-2. La subunidad  $\alpha$  de IL-2R se expresó en forma de cadena monomérica con un sitio de corte AcTev y una etiqueta Avi His (SEC ID nº 278 y nº 279). Las subunidades respectivas de IL-2R se expresaron transitoriamente en HEK EBNA 293 con suero para el constructo de subunidad  $\beta\gamma$  de IL-2R y sin suero para el constructo de subunidad  $\alpha$ . El constructo de subunidad  $\beta\gamma$  de IL-2R se purificó en proteína A (GE Healthcare), seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 200). La subunidad  $\alpha$  de IL-2R se purificó mediante una etiqueta His en una columna NiNTA (Qiagen), seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 75).

#### Preparación de los inmunoconjugados

Puede encontrarse más información sobre la preparación y purificación de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab, incluyendo la generación y maduración de afinidad de las fracciones de unión a antígeno, en los Ejemplos adjuntos a la publicación de patente PCT nº WO 2011/020783, que se incorpora como referencia en la presente memoria en su totalidad. Tal como se describe en dicha referencia, se han generados diversos dominios de unión a antígeno dirigidos contra FAP, mediante expresión fágica, incluyendo los denominados 4G8, 3F2, 28H1, 29B11, 14B3 y 4B9 utilizados en los ejemplos siguientes. El clon 28H1 es un anticuerpo de afinidad madurada basado en el clon parental 4G8, mientras que los clones 29B11, 14B3 y 4B9 son anticuerpos de afinidad madurada basados en el clon parental 3F2. El dominio de unión a antígeno denominado MHLG1 KV9 utilizado en la presente memoria presenta como diana MCSP.

Las secuencias de los inmunoconjugados que comprenden IL-2 de tipo salvaje que se utilizaron en los ejemplos siguientes también pueden encontrarse en la solicitud de patente PCT nº WO 2011/020783. Las secuencias correspondientes a los inmunoconjugados que comprendían IL-2 mutante cuádruple que se utilizaron en los ejemplos siguientes fueron: 4G8: SEC ID nº 211 y nº 233; 3F2: SEC ID nº 209 y nº 231; 28H1: SEC ID nº 219 y nº 233; 29B11: SEC ID nº 221 y nº 231; 14B3: SEC ID nº 229 y nº 231; 4B9: SEC ID nº 227 y nº 231; MHLG1-KV9: SEC ID nº 253 y nº 255. Las secuencias de ADN se generaron mediante síntesis génica y/o técnicas clásicas de biología molecular y se subclonaron en vectores de expresión de mamífero (uno para la cadena ligera y una para la proteína de fusión cadena pesada/IL-2) bajo el control de un promotor de MPSV y cadena arriba de un sitio poliA sintético, portando cada vector una secuencia OriP del EBV. Los inmunoconjugados tal como se aplican en los ejemplos, posteriormente, se produjeron mediante cotransfección de células HEK293-EBNA en crecimiento exponencial con los vectores de expresión de mamífero utilizando la transfección con fosfato de calcio. Alternativamente, se transfectaron células HEK293 en suspensión utilizando polietilenimina (PEI) con los vectores de expresión respectivos. Alternativamente, se utilizaron "pools" de células CHO transfectadas establemente o clones de células CHO, para la producción en medio libre de suero. Aunque los constructos Fab-IL-2-Fab basados en 4G8 con diana en FAP que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) pueden purificarse mediante cromatografía de afinidad utilizando una matriz de proteína A, los constructos Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 con diana en FAP de afinidad madurada se purificaron mediante cromatografía de afinidad en una matriz de proteína G a escala pequeña.

Brevemente, Fab-IL-2-Fab de 28H1 con diana en FAP, que comprendía IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), se purificó a partir de sobrenadantes celulares mediante una etapa de afinidad (proteína G) seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200, GE Healthcare). La columna de proteína G se equilibró en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5, se cargó el sobrenadante, y la columna se lavó con fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5. Se eluyó Fab-IL-2-Fab con ácido fórmico 8,8 mM, pH 3. Se agruparon las fracciones eluidas y se pulieron mediante cromatografía de exclusión por tamaño en el tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. Se proporcionan posteriormente resultados ejemplares de la purificación y los análisis.

Los constructos Fab-IL-2-Fab de 3F2 con diana en FAP o Fab-IL-2-Fab de 4G8 que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) se purificaron mediante un método similar compuesto de una etapa de afinidad utilizando proteína A, seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200, GE Healthcare). Se equilibró la columna de proteína A en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5, se cargó el sobrenadante y la columna se lavó con fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 500 mM, pH 7,5, seguido de un lavado con fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM y cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. Opcionalmente se lleva a cabo un tercer lavado con MES 10 mM y cloruro sódico 50 mM, pH 5. Se eluyó Fab-IL-2-Fab con citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM, glicina 100 mM, pH 3. Las fracciones eluidas se agruparon y se pulieron mediante cromatografía de exclusión por tamaño en el tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. Se proporcionan posteriormente procedimientos y resultados ejemplares detallados para los constructos seleccionados.

Se generaron proteínas de fusión IgG-IL-2 qm con diana en FAP basándose en los anticuerpos de FAP 4G8, 4B9 y

28H1, en las que se fusionó una única IL-2 mutante cuádruple (qm) con el extremo C-terminal de una cadena pesada heterodimérica, tal como se muestra en la figura 1B. La dianización al estroma tumoral en el que se expresa selectivamente FAP se consigue mediante la región Fab del anticuerpo bivalente (efecto de avidéz). La heterodimerización que resulta en la presencia de una única IL-2 mutante cuádruple se consigue mediante la aplicación de la tecnología de botón-en-oyal. Con el fin de minimizar la generación de fusiones homodiméricas IgG-citoquina, la citoquina se fusionó con el extremo C-terminal (con delección del residuo Lys C-terminal) de la cadena pesada de IgG que contiene botón mediante un conector G4'(SG<sub>4</sub>)<sub>2</sub> o (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>. La fusión anticuerpo-citoquina presenta propiedades de tipo IgG. Para reducir la unión de FcγR/función efectora y evitar la coactivación de FcR, se introdujeron las mutaciones P329G, L234A, L235A (LALA) en el dominio Fc. Las secuencias de estos inmunocombinados se proporcionan en SEC ID nº 297, nº 299 y nº 233 (28H1), SEC ID nº 301, nº 303 y nº 231 (4B9) y SEC ID nº 315, 317 y 233 (4G8). Además, se generó una proteína de fusión IG-IL-2 qm con diana en ACE y una proteína de fusión IgG-IL-2 qm sin diana DP47GS de control en la que IgG no se une a una diana especificada. Las secuencias de estos inmunocombinados se proporcionan en SEC ID nº 305, nº 307 y nº 309 (DP47GS) y en SEC ID nº 319, nº 321 y nº 323 (CH1A1A). Los constructos IgG-IL-2 se generaron mediante expresión transitoria en células HEK293 EBNA y se purificaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente para los constructos Fab-IL-2-Fab. Brevemente, se purificaron proteínas de fusión IgG-IL-2 mediante una etapa de afinidad con proteína A (HiTrap ProtA, GE Healthcare) equilibrada en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5. Tras cargar el sobrenadante, la columna en primer lugar se lavó con fosfato sódico 20 mM y citrato sódico 20 mM, pH 7,5, y posteriormente se lavó con fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM y cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. La proteína de fusión IgG-citoquina se eluyó con citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM y glicina 100 mM, pH 3. Las fracciones se neutralizaron, se agruparon y se purificaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare) en tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. Se proporcionan posteriormente procedimientos y resultados ejemplares detallados para los constructos seleccionados. La concentración de proteínas de las muestras de proteínas purificadas se determinó mediante la medición de la densidad óptica (DO) a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción molar calculado basándose en la secuencia de aminoácidos. Se analizó mediante SDS-PAGE la pureza y el peso molecular de los inmunocombinados en presencia y en ausencia de un agente reductor (1,4-ditiotreitol 5 mM) y se tiñeron con azul de Coomassie (SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen). Se utilizó el sistema de gel premoldeado NuPAGE® (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante (geles de Tris-glicina al 4-20% o Bis-Tris al 3-12%). Se analizó el contenido agregado de inmunocombinados utilizando una columna analítica de exclusión por tamaño Superdex 200 10/300GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, NaCl 150 mM, NaN<sub>3</sub> al 0,02%, pH 7,3, tampón de migración a 25°C.

Afinidad de unión a FAP

Se determinó la afinidad de unión a FAP de los fragmentos Fab cortados utilizados en dichos ejemplos a modo de fracciones de unión a antígeno, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) en un aparato Biacore. Brevemente, se inmovilizó un anticuerpo anti-His (Penta-His, Qiagen 34660) sobre chips CM5 para captura FAP-His humano, murino o de Cynomolgus 10 nM (20 s). La temperatura era de 25°C y se utilizó HBS-EP como tampón. La concentración de analito Fab era de 100 nM bajando a 0,41 nM (duplicados) a un caudal de 50 µl/minuto (asociación: 300 s, disociación: 600 s (4B9, 14B3, 29B11, 3F2) ó 1.200 s (28H1, 4G8), regeneración: 60 s glicina 10 mM, pH 2). Se realizó el ajuste en un modelo de unión 1:1, RI=0, Rmax=local (debido al formato de captura). La Tabla 2 proporciona las afinidades monovalentes determinadas mediante SPR.

TABLE 2. Afinidad (K<sub>D</sub>) de fragmentos Fab con diana en FAP para FAP determinada mediante SPR.

K <sub>D</sub> (en nM)	FAP humana	FAP de Cynomolgus	FAP murina
Fab de 4B9	0,3	0,23	5
	0,31	0,24	5,2
Fab de 14B3	0,47	0,61	4,7
	0,47	0,59	4,7
Fab de 29B11	0,19	0,21	1,3
	0,19	0,2	1,2
Fab de 3F2	6	4,7	8,9
	6	5,3	9,5
Fab de 28H1	2,6	3,7	0,13
	2,6	3,7	0,18
Fab de 4G8	53 (48 en equilibrio)	33 (33 en equilibrio)	0,07
	51 (48 en equilibrio)	35 (34 en equilibrio)	0,07

Ensayos de actividad biológica con inmunocombinados de IL-2 dirigidos

La actividad biológica de los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP o CSP y de inmunocombinados IgG-

IL-2 con diana en FAP, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) se investigó en varios ensayos celulares en comparación con la IL-2 disponible comercialmente (proleuquina, Novartis, Chiron).

#### Liberación de IFN- $\gamma$ por células NK (en solución)

5 Se incubaron células NK92 en ayuno de IL-2 (100.000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos en U) con diferentes concentraciones de inmunoconjugados de IL-2, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), durante 24 horas en medio NK (MEM alfa de Invitrogen (n° 22561-021) suplementado con FCS al 10%, suero de caballo al 10%, 2-mercaptoetanol 0,1 mM, inositol 0,2 mM y ácido fólico 0,02 mM). Se recolectaron los sobrenadantes y se analizó la liberación de IFN- $\gamma$  utilizando el kit ELISA II anti-IFN- $\gamma$  humano de Becton Dickinson (n° 550612). La proleuquina (Novartis) sirvió de control positivo para la activación mediada por IL-2 de las células.

#### Proliferación de células NK

15 Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMC. Se aislaron células NK humanas intactas a partir de las PBMC utilizando el kit II de aislamiento de células NK humanas de Miltenyi Biotec (n° 130-091-152). Se comprobó la expresión de CD25 por parte de las células mediante citometría de flujo. Para los ensayos de proliferación, se incubaron 20.000 células NK humanas aisladas durante 2 días en un incubador humidificado a 37°C, con 5% de CO<sub>2</sub> en presencia de diferentes inmunoconjugados de IL-2, comprendiendo IL-2 mutante de tipo salvaje o mutante (cuádruple). La proleuquina (Novartis) sirvió de control. Tras 2 días, se midió el contenido de ATP de los lisados celulares utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo de Promega (n° G7571/2/3). Se calculó el porcentaje de crecimiento fijando la concentración máxima de proleuquina en 100% de proliferación y las células no tratadas sin estímulo de IL-2 en una proliferación de 0%.

#### Ensayo de fosforilación de STAT5

30 Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMCs. Se trataron PBMCs con inmunoconjugados de IL-2, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), a las concentraciones indicadas o con proleuquina (Novartis) a modo de control. Tras una incubación de 20 minutos a 37°C, las PBMC se fijaron con tampón Cytofix precalentado (Becton Dickinson n° 554655) durante 10 minutos a 37°C, seguido de la permeabilización con tampón Phosflow Perm III (Becton Dickinson n° 558050) durante 30 minutos a 4°C. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 0,1% antes de realizar la tinción con FACS utilizando mezclas de anticuerpos para citometría de flujo para la detección de diferentes poblaciones celulares y la fosforilación de STAT5. Las muestras se analizaron utilizando un FACSCantoll con HTS de Becton Dickinson.

35 Se definieron las células NK como CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>, las células T CD8 positivas se definieron como CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, las células T CD4 positivas se definieron como CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>+</sup> y se definieron las células T<sub>reg</sub> como CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>.

#### Proliferación y AICD de células T

45 Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMCs. Se aislaron las células T intactas utilizando el kit Pan II de aislamiento de células T de Miltenyi Biotec (n° 130-091-156). Las células T se preestimularon con 1  $\mu$ g/ml de PHA-M (Sigma Aldrich n° L8902) durante 16 horas antes de añadir proleuquina o inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), a las células lavadas durante otros 5 días. Tras 5 días, se midió el contenido de ATP de los lisados celulares utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo de Promega (n° G7571/2/3). Se calculó la proliferación relativa fijando la concentración máxima de proleuquina en 100% de proliferación.

50 La exposición a fosfatidilserina (PS) y la muerte celular de las células T se sometieron a ensayo mediante análisis de citometría de flujo (FACSCantoll, BD Biosciences) de células teñidas con anexina V (kit de tinción de anexina V-FLUOS, Roche Applied Science) y yoduro de propidio (PI). Para inducir la muerte celular inducida por activación (AICD), las células T se trataron con un anticuerpo anti-Fas inductor de apoptosis (clon Millipore Ch11) durante 16 horas tras el tratamiento de 16 horas de PHA-M y de 5 días con inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab. La tinción con anexina V se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, las células se lavaron con tampón de unión Ann-V (solución madre 1x: Hepes 0,01 M/NaOH, pH 7,4, NaCl 0,14 M, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM) y se tiñeron durante 15 minutos aTA en la oscuridad con anexina V-FITC (Roche). Se lavaron nuevamente las células en tampón de unión Ann-V antes de la adición de 200  $\mu$ l/pocillo de tampón de unión Ann-V que contenía PI (0,3  $\mu$ g/ml). Las células se analizaron inmediatamente mediante citometría de flujo.

#### Unión a células que expresan FAP

La unión de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm de diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab a FAP humana expresada

sobre células HEK293 transfectadas establemente se midió mediante FACS. Brevemente, se incubaron 250.000 células por pocillo con la concentración indicada de los inmunocombinados en una placa de 96 pocillos de fondo redondo, se incubaron durante 30 minutos a 4°C y se lavaron una vez con PBS/BSA al 0,1%. Se detectaron los inmunocombinados unidos tras la incubación durante 30 minutos a 4°C con fragmento F(ab')<sub>2</sub> AffiniPure de cabra específicamente anti-F(ab')<sub>2</sub> humano combinado con FITC (Jackson ImmunoResearch Lab n° 109-096-097, solución de trabajo: 1:20 diluido en PBS/BSA al 0,1%, recién preparado) utilizando un FACS Cantoll (Software FACS Diva).

#### Análisis de la internalización de FAP tras la unión según FACS

Para varios anticuerpos de FAP conocidos de la técnica se describe que inducen la internalización de FAP tras la unión (descrito en, por ejemplo, Baum et al., J. Drug Target 15:399-406, 2007; Bauer et al., Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (edición posterior al congreso), vol. 28 (suplemento de 20 de mayo), resumen n° 13062 (2010); Ostermann et al., Clin. Cancer Res. 14:4584-4592, 2008). De esta manera, los presentes inventores analizaron las propiedades de internalización de los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab de la invención. Brevemente, las células GM05389 (fibroblastos pulmonares humanos) cultivados en medio EMEM + FCS al 15%, se desengancharon, se lavaron, se contaron, se comprobó su viabilidad y se sembraron a una densidad de 2x10<sup>5</sup> millones de células/pocillo en placas de 12 pocillos. Al día siguiente, los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP se diluyeron en medio frío y se permitió que se uniesen a superficies celulares durante 30 minutos sobre hielo. El exceso de anticuerpo no unido se desprendió mediante lavado utilizando PBS frío y las células se incubaron adicionalmente en 0,5 ml de medio precalentado a 37°C durante los periodos de tiempo indicados. Tras alcanzar los diferentes puntos temporales, las células se transfirieron a hielo, se lavaron una vez con PBS frío y se incubaron con el anticuerpo secundario (fragmento F(ab')<sub>2</sub> AffiniPure de cabra específicamente anti-F(ab')<sub>2</sub> humano combinado con FITC, Jackson ImmunoResearch Lab n° 109-096-097, dilución 1:20) durante 30 minutos a 4°C. A continuación, las células se lavaron dos veces con PBS/BSA al 0,1%, se transfirieron a una placa de 96 pocillos, se centrifugaron durante 4 minutos a 4°C, 400 x g y se resuspendieron los pellets celulares mediante agitación con vórtex. Las células se fijaron utilizando 100 µl de PFA al 2%. Para la medición con FACS, las células se resuspendieron en 200 µl/muestra de PBS/BSA al 0,1% y se midieron con el protocolo para placas en un aparato de FACS Cantoll (Software FACS Diva).

#### Ejemplo 2

Los presentes inventores diseñaron versiones mutadas de IL-2 que comprendían una o más de las mutaciones siguientes (en comparación con la secuencia de tipo salvaje de IL-2 mostrada en SEC ID n°: 1):

1. T3A - inactivación del sitio predicho de O-glucosilación
2. F42A - inactivación de la interacción IL-2/IL-2R $\alpha$
3. Y45A - inactivación de la interacción IL-2/IL-2R $\alpha$
4. L72G - inactivación de la interacción IL-2/IL-2R $\alpha$
5. C125A - mutación previamente descrita que evita los dímeros de IL-2 puenteados con disulfuro

Un polipéptido IL-2 mutante que comprende la totalidad de las mutaciones 1 a 4 se denota en la presente memoria como IL-2 mutante cuádruple (qm). Puede comprender además la mutación 5 (ver SEC ID n° 19).

Además de las tres mutaciones F42A, Y45A y L72G, diseñadas para interferir con la unión a CD25, se seleccionó la mutación T3A para eliminar el sitio de O-glucosilación y obtener un producto proteico de mayor homogeneidad y pureza al expresarse el polipéptido IL-2 qm o inmunocombinado en células eucarióticas tales como células CHO o HEK293.

Para los fines de purificación, se introdujo una etiqueta His6 en el extremo C-terminal unido mediante una secuencia VD. A título comparativo, se generó una versión análoga no mutada de IL-2 que únicamente contenía la mutación C145A para evitar puentes disulfuro intermoleculares no deseados (SEC ID n° 3). Los pesos moleculares respectivos sin secuencia de señal eran de 16.423 D para la IL-2 desnuda y de 16.169 D para la IL-2 qm desnuda. Las IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple con etiqueta His se transfectaron en células HEK EBNA en medio libre de suero (medio F17). El sobrenadante filtrado se intercambiò por tampón en un flujo cruzado, antes de cargarlo en cartucho NiNTA Superflow (5 ml, Qiagen). La columna se lavó con tampón de lavado: fosfato sódico 20 mM, cloruro sódico 0,5 M, pH 7,4, y se eluyó con tampón de elución: fosfato sódico 20 mM, cloruro sódico 0,5 M e imidazol 0,5 M, pH 7,4. Tras cargar la columna, se lavó con 8 volúmenes de columna (VC) de tampón de lavado, 10 CV de tampón de elución al 5% (corresponde a imidazol 25 mM), eluyendo después con un gradiente hasta imidazol 0,5 M. El eluido agrupado se purificó mediante cromatografía de exclusión por tamaño en una columna HiLoad 16/60 Superdex75 (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. La figura 2 muestra el cromatograma de la purificación con etiqueta His para la IL-2 desnuda de tipo salvaje. El grupo 1 se preparó a partir de las fracciones 78 a 85, el grupo 2 a partir de las fracciones 86 a 111. La figura 3 muestra el cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño de la IL-2 de tipo salvaje; para cada grupo se agruparon

las fracciones 12 a 14. La figura 4 muestra la cromatografía analítica de exclusión por tamaño para la IL-2 de tipo salvaje determinada en una columna Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. Los grupos 1 y 2 contenían 2 proteínas de aproximadamente 22 y 20 kDa. El grupo 1 presentaba más de la proteína grande, y el grupo 2 presentaba más de la proteína pequeña; putativamente esta diferencia se debía a diferencias de O-glucosilación. Los rendimientos fueron de aproximadamente 0,5 mg/l de sobrenadante para el grupo 1 y de aproximadamente 1,6 mg/l de sobrenadante para el grupo 2. La figura 5 muestra el cromatograma de la purificación con etiqueta His para la IL-2 mutante cuádruple. El grupo 1 se preparó a partir de las fracciones 59 a 91, el grupo 2, a partir de las fracciones 92 a 111. La figura 6 muestra el cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño de la IL-2 mutante cuádruple; en este caso únicamente se reservó el grupo 2, que agrupaba las fracciones 12 a 14. La figura 7 muestra la cromatografía analítica de exclusión por tamaño para la IL-2 mutante cuádruple determinada en una columna Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. La preparación para la IL-2 mutante cuádruple desnuda contenía únicamente una proteína de 20 kD. En esta proteína se ha inactivado el sitio de O-glucosilación. Se almacenaron alícuotas de la IL-2 desnuda de tipo salvaje y mutante cuádruple a -80°C. Los rendimientos fueron de aproximadamente 0,9 mg/l de sobrenadante.

Se purificó un segundo lote de IL-2 mutante cuádruple etiquetado con His tal como se ha indicado anteriormente mediante cromatografía de afinidad de iones metálicos inmovilizados (IMAC) y seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Los tampones utilizados para IMAC fueron Tris 50 mM, imidazol 20 mM, NaCl 0,5 M, pH 8 para el equilibrado y lavado de la columna, y Tris 50 mM, imidazol 0,5 M, NaCl 0,5 M, pH 8, para la elución. El tampón utilizado para la SEC y el tampón de formulación final eran histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6. La figura 43 muestra el resultado de esta purificación. El rendimiento fue de 2,3 ml/l de sobrenadante.

Posteriormente, se determinaron la afinidad para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  y la subunidad  $\alpha$  de IL-2R mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). Brevemente, el ligando (subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano (Fc2) o heterodímero botón  $\beta$  ojal y de IL-2R humano (Fc3)) se inmovilizó en un chip CM5. A continuación, la IL-2 desnuda de tipo salvaje ("pools" 1 y 2) o la IL-2 mutante cuádruple, y la proleuquina (Novartis/Chiron) se aplicaron al chip en forma de analitos a 25°C en tampón HBS-EP a concentraciones comprendidas entre 300 nM y 1,2 nM (dil. 1:3). El caudal era de 30  $\mu$ l/minuto y se aplicaron las condiciones siguientes para la asociación: 180 s, disociación: 300 s, y regeneración: 2 x 30 s, MgCl<sub>2</sub> 3 M para el heterodímero botón  $\beta$  ojal y de IL-2R, 10 s NaOH 50 mM para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R. Se aplicó una unión 1:1 para el ajuste (unión 1:1 RI $\neq$ 0, Rmax=local para IL-2R  $\beta\gamma$ , KD aparente, unión 1:1 RI=0, Rmax=local para IL-2R $\alpha$ ). La Tabla 3 muestra los valores respectivos de KD para la unión de la IL-2 humana de tipo salvaje y mutante cuádruple, así como de proleuquina, a IL-2R $\beta\gamma$  y a la subunidad  $\alpha$  de IL-2R.

TABLA 3. Afinidad de los polipéptidos IL-2 mutantes para el IL-2R de afinidad intermedia y la subunidad  $\alpha$  de IL-2R

K <sub>D</sub> (en nM) T = 25°C	IL-2R hu $\beta\gamma$ (cinética)	IL-2R hu $\alpha$ (cinética)	IL-2R hu $\alpha$ (equilibrio)
IL-2 desnuda wt, grupo 1	5,6 5	17,4 16,6	30,3 23,9
IL-2 desnuda wt, grupo 2	2,8 1,8	10,6 10	19,7 17,6
IL-2 qm desnuda	2,7 2	falta de unión	falta de unión
Proleuquina	2,4 2,8	7,5 12,5	19 17,8

Los datos demuestran que la IL-2 desnuda mutante cuádruple muestra el comportamiento deseado y que ha perdido la capacidad de unión a la subunidad  $\alpha$  de IL-2R, mientras que se conserva la capacidad de unión a IL-2R  $\beta\gamma$ , siendo comparable a la del constructo de IL-2 de tipo salvaje respectivo y de la proleuquina. Las diferencias entre los "pools" 1 y 2 de la IL-2 de tipo salvaje probablemente pueden atribuirse a diferencias de O-glucosilación. Esta variabilidad y heterogeneidad se ha superado en la IL-2 mutante cuádruple mediante la introducción de la mutación T23A.

### Ejemplo 3

Se introdujeron las tres mutaciones F42A, Y45A y L72G y la mutación T3A en el formato Fab-IL-2-Fab (figura 1A) utilizando el anticuerpo 4G8 anti-FAP como dominio de diana modelo, en forma de mutantes simples: 1) 4G8 IL-2 T3A, 2) 4G8 IL-2 F42A, 3) 4G8 IL-2 Y45A, 4) 4G8 IL-2 L72G, o se combinaron en los constructos Fab-IL-2 mt-FAB en forma de: 5) triple mutante F42A/Y45A/L72G, o en forma de: 6) mutante cuádruple T3A/F42A/Y45A/L72G para inactivar también el sitio de O-glucosilación. El constructo Fab-IL-2- wt-Fab basado en 4G8 se utilizó a título comparativo. Todos los constructos contenían la mutación C145A para evitar los dímeros de IL-2 puenteados con

disulfuro. Los diferentes constructos Fab-IL-2-Fab se expresaron en células HEK 293 y se purificaron tal como se ha descrito anteriormente, con proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño tal como se ha especificado anteriormente. A continuación, la afinidad de las variantes de IL-2 seleccionadas para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  humano y murino y para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano y murino se determinaron mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) (Biacore) utilizando el heterodímero recombinante IL-2R  $\beta\gamma$  y la subunidad  $\alpha$  de IL-2R monomérica, bajo las condiciones siguientes: La subunidad  $\alpha$  de IL-2R se inmovilizó a dos densidades y la celda de flujo con la mayor inmovilización se utilizó para los mutantes que habían perdido la unión a CD25. Se utilizaron las condiciones siguientes: inmovilización química: heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  humano 1675 RU; heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  de ratón 5094 UR; subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano 1019 RU; subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano 385 UR; subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano 1182 RU; subunidad  $\alpha$  de IL-2R murino 378 RU, temperatura: 25°C, analitos: Constructos Fab-variantes de IL-2-Fab de 4G8 3,1 nM a 200 nM, caudal: 40  $\mu$ l/minuto, asociación: 180 s, disociación: 180 s, regeneración: glicina 10 mM, pH 1,5, 60 s, 40  $\mu$ l/minuto. Ajuste: modelo de reacción en dos estados (cambio conformacional), RI=0,  $R_{max}$ =local. Los resultados del análisis cinético se proporcionan en la Tabla 4.

15 TABLA 4. Afinidad de los inmunoconjugados con diana en FAP que comprenden polipéptidos IL-2 mutantes para IL-2R de afinidad intermedia y la subunidad  $\alpha$  de IL-2R ( $K_D$ )

Constructo Fab-IL-2-Fab	IL-2R hu $\beta\gamma$	IL-2R hu $\alpha$	IL-2R mu $\beta\gamma$	IL-2R mu $\alpha$
4G8 IL-2 wt	3,8 nM	4,5 nM	45,6 nM	29 nM
4G8 IL-2 T3A	1,6 nM	4,9 nM	15,6 nM	15 nM
4G8 IL-2 F42A	4,7 nM	149 nM	57 nM	363 nM
4G8 IL-2 Y45A	3,9 nM	22,5 nM	41,8 nM	369 nM
4G8 IL-2 L72G	ND	45,3 nM	ND	ND
4G8 IL-2 triple mutante F42A/Y45A/L72G	5,6 nM	falta de unión	68,8 nM	ND
4G8 IL-2 mutante cuádruple T3A/F42A/Y45A/L72G	5,2 nM	falta de unión	56,2 nM	falta de unión

Se mostró mediante SPR la unión simultánea al heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  y FAP. Brevemente, el constructo botón-  
 20 ojal IL-2R  $\beta\gamma$  humano se inmovilizó en un chip CM5 químicamente y se capturaron constructos Fab-IL-2-Fab 10 nM durante 90 s. La FAP humana sirvió como analito a concentraciones de 200 nM a 0,2 nM. Las condiciones fueron: temperatura: 25°C, tampón: HBS-EP, caudal: 30  $\mu$ l/minuto, asociación: 90 s, disociación: 120 s. La regeneración se realizó durante 60 s con glicina 10 mM, pH 2. El ajuste se llevó a cabo con un modelo de unión 1:1, RI $\neq$  0, Rmax=global. El ensayo de formación de puentes de SPR demostró que los constructos Fab-IL-2-Fab, tanto el tipo salvaje como el mutante cuádruple, así como el basado en el ligante de FAP 28H1 de afinidad madurada o los anticuerpos 3F2 ó 4G8 parentales, fueron capaces de unirse a una concentración de 10 nM simultáneamente al heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  inmovilizado sobre el chip, así como a la FAP humana utilizada como analito (figura 8). Las afinidades determinadas se muestran en la Tabla 5.

30 TABLA 5. Afinidad de los inmunoconjugados con diana en FAP, que comprenden polipéptidos IL-2 mutantes y unidos a IL-2R de afinidad intermedia, para FAP ( $K_D$ )

Constructo Fab-IL-2-Fab	$K_D$
Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	5,0 nM
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	5,6 nM
Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11	0,32 nM
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11	0,89 nM
Fab-IL-2 wt-Fab de 3F2	1,2 nM

Conjuntamente los datos de SPR demostraron que: i) la mutación T3A no influye sobre la unión a CD25, ii) las tres mutaciones, F42A, Y45A y L72G, no influyen sobre la afinidad para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ , mientras que reducen la afinidad para CD25 en el orden siguiente: wt = T3A > Y45A (aproximadamente 5x inferior) > L72G (aproximadamente 10x inferior) > F42A (aproximadamente 33x inferior), iii) la combinación de las tres mutaciones, F42A, Y45A y L72G, con o sin la mutación T3A del sitio de O-glucosilación, resultó en una pérdida completa de la unión a CD25 según determinación bajo condiciones de SPR, iv) aunque la afinidad de la IL-2 humana para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  murino y la subunidad  $\alpha$  de IL-2R se redujo en un factor de aproximadamente 10 en comparación con los receptores de IL-2 humanos, las mutaciones seleccionadas no presentaron ninguna influencia sobre la afinidad para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  murino, aunque eliminaron la unión a la subunidad  $\alpha$  del IL-2R murino. Esto indica que el ratón representa un modelo válido para el estudio de los efectos farmacológicos y toxicológicos de las IL-2 mutantes, aunque globalmente IL-2 muestra menos toxicidad en roedores que en el ser humano.

45 Aparte de la pérdida de la O-glucosilación, una ventaja adicional de la combinación de las cuatro mutaciones, T3A, F42A, Y45A y L72G, es una menor hidrofobicidad superficial de la IL-2 mutante cuádruple debido al intercambio de residuos hidrofóbicos expuestos en superficie, tales como fenilalanina, tirosina o leucina por la alanina. Un análisis



de la temperatura de agregación mediante dispersión lumínica dinámica demostró que la temperatura de agregación para los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab con diana en FAB que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple se encontraban dentro del mismo intervalo: aproximadamente 57-58°C para el constructo parental Fab-IL-2-Fab de 3F2 y para el derivado 29B11 3F2 de afinidad madurada, y en el intervalo de 62-63°C para el constructo parental Fab-IL-2-Fab de 4G8 y los derivados 28H1, 4B9 y 14B3 de afinidad madurada, indicando que la combinación de las cuatro mutaciones no presentó ningún impacto negativo sobre la estabilidad de la proteína. En apoyo de las propiedades favorables de la IL-2 mutante cuádruple seleccionada, los rendimientos de expresión transitoria indicaban que el mutante cuádruple en el formato Fab-IL-2 qm-Fab podría resultar incluso en rendimientos de expresión más altos que los observados para los constructos Fab-IL-2 wt-Fab respectivos. Finalmente, el análisis farmacocinético demostró que tanto Fab-IL-2 qm-Fab basado en 4G8 y Fab-IL-2 wt-Fab presentan propiedades PK comparables (ver el Ejemplo 9, posteriormente). Basándose en estos datos y los datos celulares indicados en el Ejemplo 4 a continuación, el mutante cuádruple T3A, F42A, Y45A, L72G se seleccionó como combinación ideal de mutaciones para eliminar la unión a CD25 de IL-2 en el inmunoconjugado dirigido Fab-IL-2-Fab.

#### 5 Ejemplo 4

Los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basados en 4G8 con diana en FAP, que comprenden IL-2 de tipo salvaje o los mutantes sencillos 4G8 IL-2 T3A, 4G8 IL-2 F42A, 4G8 IL-2 Y45A, 4G8 IL-2 L72G o la IL-2 mutante triple (F42A/Y45A/L72G) o cuádruple (T3A/F42A/Y45A/L72G) respectiva, se sometieron a ensayo seguidamente en ensayos celulares en comparación con la proleuquina, tal como se ha indicado anteriormente.

Se midió la liberación de IFN- $\gamma$  inducida por IL-2 tras la incubación de la línea NK92 de células NK con los constructos (figura 9). Las células NK92 expresa CD25 sobre su superficie. Los resultados muestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era menos potente en la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  que la proleuquina, tal como sería de esperar a partir de la afinidad aproximadamente 10 veces inferior de Fab-IL-2 wt-Fab para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ . La introducción de mutaciones sencillas que interfieren con la unión de CD25, así como la combinación de las tres mutaciones que interfieren con la unión de CD25 en la IL-2 triple mutante resultó en constructos Fab-IL-2-Fab que eran comparables al constructo de IL-2 de tipo salvaje en términos de potencia e inducción absoluta de la liberación de IFN- $\gamma$ , dentro del error del método.

TABLA 6. Inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  a partir de células NK por parte de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprenden polipéptidos IL-2 mutantes.

Constructo	EC <sub>50</sub> [nM]
Proleuquina	4,1
Fab-IL2 wt-Fab de 4G8	23,0
Fab-IL-2 (T3A)-Fab de 4G8	16,2
Fab-IL-2 (F42A)-Fab de 4G8	15,4
Fab-IL-2 (Y45A)-Fab de 4G8	20,9
Fab-IL-2 (L72G)-Fab de 4G8	16,3
Fab-IL-2 (triple mutante 42/45/72)-Fab de 4G8	24,4

A continuación, la inducción de la proliferación de células NK humanas aisladas por parte de inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab se evaluó en un ensayo de proliferación (Cell Titer Glo, Promega) (figura 10). En contraste con las células NK92, las células NK recién aisladas no expresan CD25 (o únicamente cantidades muy reducidas). Los resultados demuestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la proliferación de las células NK que la proleuquina, tal como se esperaría de una afinidad aproximadamente 10 veces inferior del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ . La introducción de mutaciones sencillas que interfieren con la unión de CD25, así como la combinación de las tres mutaciones que interfieren con la unión de CD25 en la IL-2 triple mutante resultó en constructos Fab-IL-2-Fab que eran comparables al constructo de IL-2 de tipo salvaje en términos de potencia e inducción absoluta de la proliferación; únicamente se produjo un cambio muy reducido de potencia observado para Fab-IL-2-Fab triple mutante. En un segundo experimento, se evaluó la inducción de la proliferación de las células T activadas por PHA tras la incubación con diferentes cantidades de proleuquina y de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab (figura 11). Debido a que las células T activadas expresan CD25, pudo observarse una clara reducción de la proliferación de las células T tras la incubación con los inmunoconjugados que comprenden los mutantes sencillos F42A, L72G o Y45A de IL2, mostrando F42A la reducción más fuerte, seguido de L72G e Y45A, mientras que al utilizar Fab-IL-2 wt-Fab o Fab-IL-2 (T3A)-Fab, la activación prácticamente se mantuvo constante en comparación con la proleuquina. Estos datos reflejan la reducción de la afinidad para CD25 según determinación mediante SPR (Ejemplo anterior). La combinación de las tres mutaciones que interfieren con la unión de CD25 en la IL-2 triple mutante resultó en un inmunoconjugado que mediaba en una inducción significativamente reducida de la proliferación de las células T en solución. En línea con estos resultados, los presentes inventores midieron la muerte celular de las células T según se determinó mediante tinción con anexina V/PI tras la sobreestimulación inducida por

una primera estimulación durante 16 horas con 1 µg/ml de PHA, una segunda estimulación durante 5 días con proleuquina o los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab respectivos, seguido de una tercera estimulación con 1 µg/ml de PHA. En este contexto, los presentes inventores observaron que la muerte celular inducida por activación (AICD) en células T sobreestimuladas resultaba fuertemente reducida con los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprendían las IL-2 mutantes sencillos F42A, L72G e Y45A interfirientes con la unión de CD25, mostrando F42A y L72G la reducción más fuerte, que era similar a la reducción conseguida mediante la combinación de las tres mutaciones en el inmunoconjugado que comprendía la IL-2 triple mutante (figura 12). En el último conjunto de experimentos, los presentes inventores estudiaron los efectos de Fab-IL-2 qm-Fab sobre la inducción de la fosforilación de STAT5 en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab y proleuquina en células NK humanas, células T CD4<sup>+</sup>, células T CD8<sup>+</sup> y células Treg procedentes de PBMCs humanas (figura 13). Para las células NK y las células T CD8<sup>+</sup> que muestran un nivel de expresión de CD25 nulo o muy bajo (es decir, la señalización de IL-2R se encuentra mediada por el heterodímero IL-2R βγ), los resultados demuestran que el formato Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la fosforilación de STAT5 que la proleuquina, y que la Fab-IL-2 qm-Fab era comparable al constructo Fab-IL-2 wt-Fab. En las células T CD4<sup>+</sup>, que mostraban una rápida regulación positiva de CD25 al ser estimuladas, Fab-IL-2 qm-Fab resultó ser menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab, aunque todavía mostró una inducción comparable de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación. Esto contrasta con las células Treg, en las que la potencia de Fab-IL-2 qm-Fab se encontraba significativamente reducida en comparación con el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab debido a la elevada expresión de CD25 sobre las células Treg y la posterior elevada afinidad de unión del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para CD25 sobre las células T<sub>reg</sub>. Como consecuencia de la eliminación de la unión de CD25 en el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab, la señalización de IL-2 en células Treg únicamente resultó activada por el heterodímero IL-2R βγ a concentraciones a las que la señalización de IL-2R resulta activada sobre las células efectoras CD25-negativas por el heterodímero IL-2R βγ. Conjuntamente los resultados indican que la IL-2 mutante cuádruple descrita en la presente memoria es capaz de activar la señalización de IL-2R mediante el heterodímero IL-2R βγ, pero no resulta en AICD ni en una estimulación preferente de las células T<sub>reg</sub> respecto a otras células efectoras.

#### Ejemplo 5

Basándose en los datos proporcionados en los Ejemplos 2 y 3, se generaron y purificaron los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab de afinidad madurada con diana en FAP basados en los clones 28H1 ó 29B11 tal como se ha descrito anteriormente, en la sección de métodos generales. En mayor detalle, se purificó en una etapa de afinidad (proteína G) Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 dirigido a FAP, seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200). Se llevó a cabo la equilibración de la columna en PBS y el sobrenadante de un grupo estable de CHO (medio CDCHO) se cargó en una columna de proteína G (GE Healthcare), la columna se lavó con PBS y las muestras posteriormente se eluyeron con HCl 2,5 mM y las fracciones se neutralizaron inmediatamente con 10x PBS. Se llevó a cabo una cromatografía de exclusión por tamaño en el tampón de formulación final: fosfato sódico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7 en una columna Superdex 200. La figura 14 muestra los perfiles de elución de la purificación y los resultados de la caracterización analítica del producto mediante SDS-PAGE (minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris al 4-20%, Invitrogen, tampón de migración MOPS, reducido y no reducido). Dada la baja capacidad de unión del fragmento Fab de 28H1 a proteína G y a proteína A, las etapas adicionales de captura pueden resultar en rendimientos más altos.

Los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, 3F2 y 29B11 con diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1 KV9 con diana en MCSP se purificaron mediante una etapa de afinidad (proteína A) seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200). La equilibración de la columna se llevó a cabo en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5, y el sobrenadante se cargó en la columna de proteína A. Se llevó a cabo un primer lavado en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5, seguido de un segundo lavado: fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. Los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab se eluyeron en citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM, glicina 100 mM, pH 3. La cromatografía de exclusión por tamaño se llevó a cabo en el tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. La figura 15 muestra los perfiles de elución de la purificación y los resultados de la caracterización analítica del producto mediante SDS-PAGE (minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris al 4-20%, Invitrogen, tampón de migración MOPS, reducido y no reducido) para el Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 y la figura 16, para el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1 KV9.

Se generaron proteínas de fusión IgG-IL-2 qm con diana en FAP basados en los anticuerpos de FAP 4G8, 4B9 y 28H1 y una proteína de fusión IgG-IL-2 qm no dirigido DP47G2 de control, tal como se ha descrito anteriormente en la sección de métodos generales. Las figuras 46 y 47 muestran los cromatogramas y perfiles de elución respectivos de la purificación (A, B), así como las cromatografías analíticas SDS-PAGE y de exclusión por tamaño de los constructos purificados finales (C, D) para los constructos basados en 4G8 y 28H1. Los rendimientos de expresión transitoria fueron de 42 mg/l para el inmunoconjugado IG-IL-2 qm basado en 4G8 y de 20 mg/ml para el basado en 28H1.

5 La actividad de unión de FAP de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en los anticuerpos anti-FAP 4G8 y 28H1 se determinó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) en un aparato Biacore en comparación con los anticuerpos IgG no modificados correspondientes. Brevemente, se inmovilizó un anticuerpo anti-His (Penta-His, Qiagen 34660) sobre chips CM5 para la captura de FAP humano etiquetado con His 10 nM (20 s). La temperatura era de 25°C y se utilizó HBS-EP como tampón. La concentración de analito era de 50 nM bajando a 0,05 nM a un caudal de 50 µl/minuto (asociación: 300 s, disociación: 900 s, regeneración: 60 s con glicina 10 mM, pH 2). Se realizó el ajuste en un modelo de unión 1:1, RI=0, R<sub>max</sub>=local (debido al formato de captura). La Tabla 7 proporciona las afinidades bivalentes aparentes estimadas (pM de avidéz) determinadas mediante SPR ajustada a una unión 1:1, RI=0, R<sub>max</sub>=local.

TABLA 7

K <sub>D</sub> [pM]	Hu FAP
IgG-IL-2 qm de 4G8	100
IgG 4G8	50
IgG-IL-2 qm de 28H1	175
IgG de 28H1	200

15 Los datos demuestran que, dentro del error del método, se conserva la afinidad para la FAP humana en el caso del inmunoconjugado basado en 28H1 ó únicamente ligeramente menor para el inmunoconjugado basado en 4G8, en comparación con los anticuerpos no modificados correspondientes.

Ejemplo 6

20 Se determinó la afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 y en 29B1 de afinidad madurada con diana en FAP, comprendiendo cada uno IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, y de Fab-IL-2 wt-Fab basado en 3F2, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) para el heterodímero IL-2R βγ humano, murino y de mono Cynomolgus utilizando el heterodímero recombinante IL-2R βγ bajo las condiciones siguientes: ligando: heterodímero IL-2R botón β ojal y humano, murino y de mono Cynomolgus, inmovilizado sobre un chip CM5, analito: Fab-IL-2-Fab 28H1 ó 29B11 (que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple), Fab-IL-2-Fab de 3F2 (que comprende IL-2 de tipo salvaje), temperatura: 25°C ó 37°C, tampón: HBS-EP, concentración de analito: 200 nM cayendo hasta 2,5 nM, caudal: 30 µl/minuto, asociación: 300 s, disociación: 300 s, regeneración: 60 s MgCl<sub>2</sub> 3 M, ajuste: unión 1:1, RI≠0, R<sub>max</sub>=global. Se determinó la afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 y en 29B1 de afinidad madurada con diana en FAP, comprendiendo cada uno IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, y de Fab-IL-2 wt-Fab basado en 3F2, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) para la subunidad α de IL-2R humana, murina y de mono Cynomolgus utilizando la subunidad α de IL-2R monomérico recombinante bajo las condiciones siguientes: ligando: subunidad α de IL-2R humana, murina y de mono Cynomolgus, inmovilizado sobre un chip CM5, analito: Fab-IL-2-Fab 28H1 ó 29B11 (que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante), Fab-IL-2-Fab de 3F2 (que comprende IL-2 de tipo salvaje), temperatura: 25°C ó 37°C, tampón: HBS-EP, concentración de analito: 25 nM cayendo hasta 0,3 nM, caudal: 30 µl/minuto, asociación: 120 s, disociación: 600 s, regeneración: ninguna, ajuste: unión 1:1, RI≠0, R<sub>max</sub>=global.

Los resultados del análisis cinético con el heterodímero IL-2R βγ se proporcionan en la Tabla 8.

40 TABLA 8. Unión de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprende Fab de afinidad madura e IL-2 mutante a heterodímeros IL-2R βγ

K <sub>D</sub> (en nM)	IL-2R hu βγ (25°C)	IL-2R hu βγ (37°C)	IL-2R Cyno βγ (25°C)	IL-2R Cyno βγ (37°C)	IL-2R mu βγ (25°C)	IL-2R mu βγ (37°C)
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1	9,7 9	19 22	11,5 11,6	29,2 30,4	112 79	186 219
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	7,5 6,9	14,3 14,7	8,9 8,4	21,3 21,2	66 54	142 106
Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11	6,5 5,7	9,5 12,4	6,9 6,7	14 19	93 74	71 74
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	7,2 7,4	13,1 13	7,8 8,4	16,7 18,1	60 63	44 42
Fab-IL-2 wt-Fab de 3F2	5 4,8	ND	6,4 6,1	ND	40 40	ND

Mientras que se describe que la afinidad de la IL-2 humana para el heterodímero IL-2R βγ humano es de aproximadamente 1 nM, los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab (que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple) presentan una afinidad reducida de entre 6 y 10 nM, y tal como se muestra para la IL-2 desnuda,

anteriormente, la afinidad para el IL-2R murino es aproximadamente 10 veces más débil que el IL-2R humano y de mono *Cynomolgus*.

5 Los resultados del análisis cinético con la subunidad  $\alpha$  de IL-2R se proporcionan en la Tabla 9. Bajo las condiciones seleccionadas no se produce unión detectable de los inmunocombinados que comprenden la IL-2 mutante cuádruple a la subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano, murino o cyno.

TABLA 9. Unión de los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab que comprende Fab de afinidad madura e IL-2 mutante para las subunidades  $\alpha$  de IL-2R

K <sub>D</sub> en nM	IL-2R hu $\alpha$ (25°C)	IL-2R hu $\alpha$ (37°C)	IL-2R $\alpha$ cyno (25°C)	IL-2R $\alpha$ cyno (37°C)	IL-2R $\alpha$ mu (25°C)	IL-2R $\alpha$ mu (37°C)
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1	16 16,2	28,8 28,2	16 16,2	36,5 35,6	43,3 44	67,5 61,1
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión
Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11	5 4,6	7,6 7,7	4,8 4,3	7,3 7,4	11,4 9,6	13,3 13,8
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión
Fab-IL-2 de 3F2 Fab-wt	5,7 6,1	ND	5 5,4	ND	12,3 12,1	ND

10 La afinidad de los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab de MHLG1-KV9 con diana en MCSP, que comprenden la IL-2 de tipo salvaje o la IL-2 mutante cuádruple, para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  humano se determinó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  recombinante bajo las condiciones siguientes: el heterodímero IL-2R botón  $\beta$  ojal y humano se inmovilizó sobre un chip CM5 (1.600 RU). Se utilizaron Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1-KV9 como analito a 25°C en tampón HBS-P. La concentración de analito era de 300 nM cayendo a 0,4 nM (dil. 1:3) para IL-2R  $\beta\gamma$  a un caudal de 30  $\mu$ /minuto (tiempo de asociación: 180 s, tiempo de disociación: 300 s). Se realizó la regeneración durante 2x30 s con MgCl<sub>2</sub> 3 M para IL-2R  $\beta\gamma$ . Los datos se ajustaron utilizando una unión 1:1, RI $\neq$ 0, R<sub>max</sub>=local para IL-2R  $\beta\gamma$ .

15  
20 La afinidad de los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab de MHLG1-KV9 con diana en MCSP, que comprenden la IL-2 de tipo salvaje o la IL-2 mutante cuádruple, para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano se determinó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando la subunidad  $\alpha$  de IL-2R monomérico recombinante bajo las condiciones siguientes: la subunidad  $\alpha$  de IL-2R humano se inmovilizó sobre un chip CM5 (190 UR). Se utilizaron Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1-KV9 como analito a 25°C en tampón HBS-P. La concentración de analito era de 33,3 nM cayendo a 0,4 nM (dil. 1:3) para IL-2R  $\alpha$  a un caudal de 30  $\mu$ /minuto (tiempo de asociación: 180 s, tiempo de disociación: 300 s). Se realizó la regeneración durante 10 s con NaOH 50 mM para IL-2R  $\alpha$ . Los datos se ajustaron utilizando una unión 1:1, RI=0, R<sub>max</sub>=global para IL-2R  $\alpha$ .

25  
30 Los resultados del análisis cinético con el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  se proporcionan en la Tabla 10.

TABLA 10

K <sub>D</sub> en nM, T=25°C	IL-2R hu $\beta\gamma$ (cinética)	IL-2R hu $\alpha$ (cinética)	IL-2R hu $\alpha$ (equilibrio)
Fab-IL-2 wt-Fab de MHLG1-KV9	8,6 9,8	8,8 10,1	6,8 10,9
Fab-IL2 qm-Fab de MHLG1-KV9	7,3 10,7	Falta de unión	Falta de unión

35 Los datos confirman que el inmunocombinado Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1-KV9 con diana en MCSP presenta una afinidad conservada para el receptor IL-2R  $\beta\gamma$ , mientras que la afinidad de unión para CD25 resulta eliminada en comparación con el inmunocombinado que comprende IL-2 de tipo salvaje.

40 A continuación, se determinó la afinidad de los inmunocombinados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y en 28H1 para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  y para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) en comparación directa con el formato de inmunocombinado Fab-IL-2 qm-Fab. Brevemente, los ligandos (la subunidad de IL-2R o el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ ) se inmovilizaron sobre un chip CM5. A continuación, los inmunocombinados IgG-IL-2 basados en 4G8 y en 28H1 o los inmunocombinados Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 y en 28H1 se aplicaron al chip a modo de analitos a 25°C en tampón HBS-EP a concentraciones comprendidas entre 300 nM cayendo a 1,2 nM (dil. 1:3). El caudal era de 30  $\mu$ /minuto y se aplicaron las condiciones siguientes para la asociación: 180 s, disociación: 300 s, y regeneración: 2x30 s con MgCl<sub>2</sub> 3 M para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ , 10 s con NaOH 50 mM para la subunidad  $\alpha$  de IL-2R. Se aplicó una unión 1:1 para el ajuste (unión 1:1 RI $\neq$ 0, R<sub>max</sub>=local

para IL-2R  $\beta\gamma$ ,  $K_D$  aparente, unión 1:1  $R_I=0$ ,  $R_{max}=local$  para IL-2R $\alpha$ ). Los valores  $K_D$  respectivos se proporcionan en la Tabla 11.

TABLA 11

$K_D$ aparente [nM]	IL-2R hu $\beta\gamma$	IL-2R hu $\alpha$
IgG-IL-2 qm de 4G8	5,9	Falta de unión
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	10,4	Falta de unión
IgG-IL-2 qm de 28H1	6,2	Falta de unión
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	11,4	Falta de unión

5 Los datos muestran que los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y en 28H1 se unen con por lo menos tan buena afinidad como los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab al heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ , mientras que no se unen a la subunidad  $\alpha$  de IL-2R debido a la introducción de las mutaciones interfirientes con la unión de CD25. En comparación con los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab correspondientes, la afinidad de las proteínas de fusión  
10 IgG-IL-2 qm aparentemente resulta ligeramente incrementada, dentro del error del método.

Ejemplo 7

15 En un primer conjunto de experimentos, los presentes inventores confirmaron que los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante fueron capaces de unirse a células HEK 293-FAP que expresan FAP humana según la FACS (figura 17), y confirmaron que la mutación cuádruple de IL-2 no presentó ningún impacto sobre las células expresantes de FAP (figura 18).

TABLA 12. Unión de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab a las células HEK expresantes de FAP

Valores de $EC_{50}$	nM
Fab-IL-2-Fab de 28H1	0,64
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	0,70
Fab-IL-2-Fab de 29B11	0,66
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11	0,85
Fab-IL-2-Fab de 4G8	0,65

20 En particular, estos experimentos de unión demostraron que los ligantes de FAP de afinidad madurada 28H1, 29B11, 14B3 y 4B9 en forma de Fab-IL-2 qm-Fab mostraron una unión absoluta a las células diana HEK 293-FAP superior a la de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basándose en los ligantes de FAP parentales 3F2 (29B11, 14B3, 4B9) y 4G8 (28H1) (figura 17), reteniendo simultáneamente una elevada especificidad y la falta de unión de las células HEK 293 transfectadas con DPPIV, un homólogo próximo de FAP, o de las células HEK 293 falsamente transfectadas. A título comparativo, se utilizó como control positivo el anticuerpo de ratón anti-CD26 humano-PE DPPIV clon M-A261 (BD Biosciences, nº 555437) (figura 19). El análisis de las propiedades de internalización mostró que la unión de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab no resulta en la inducción de la internalización de FAP (figura  
25 20).

30 En un experimento adicional, la unión de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 con diana en FAP expresados sobre células HEK293 transfectadas establemente se midió mediante FACS. Se muestran los resultados en la figura 48. Los datos demuestran que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm se une a las células expresantes de FAP con un valor de  $EC_{50}$  de 0,9 nM, comparable al del constructo Fab-IL-2 qm-Fab basado en 4G8 correspondiente (0,7 nM).  
35

Los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab anti-FAP de afinidad madurada que comprendían IL-2 de tipo salvaje o el mutante cuádruple seguidamente se sometieron a ensayo en ensayos celulares en comparación con proleuquina, tal como se indica en los ejemplos, anteriormente.  
40

Se midió la liberación de IFN- $\gamma$  inducida por IL-2 en el sobrenadante mediante ELISA tras la incubación de la línea NK92 de células NK con dichos inmunoconjugados (figura 21) durante 24 horas. Las células NK92 expresan CD25 sobre su superficie. Los resultados muestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era menos potente en la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  que la proleuquina, tal como sería de esperar a partir de la afinidad aproximadamente 10 veces inferior del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ . Los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab eran bastante comparables al constructo de tipo salvaje respectivo para un clon seleccionado en términos de potencia y de inducción absoluta de la liberación de IFN- $\gamma$  a pesar del hecho de que las células NK92 expresan cierta cantidad de CD25. Sin embargo, pudo observarse que el Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11 indujo una menor liberación de citoquina en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11, así como los constructos de 28H1 y de 4G8, para los que únicamente se produjo un pequeño cambio de potencia observado para Fab-IL-2 qm-Fab respecto a Fab-IL-2 wt-Fab.  
45 50

Además, el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en MHLG1-KV9 con diana en MCSP se comparó con los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1 y 29B11 en el ensayo de liberación de IFN- $\gamma$  sobre células NK92. La figura 22 muestra que Fab-IL-2 qm-Fab basado en MHLG1-KV9 con diana en MCSP es bastante comparable en la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  a los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab con diana en FAP.

Posteriormente, la inducción de la proliferación de las células NK92 por parte de IL-2 durante un periodo de 3 días se evaluó en un ensayo de proliferación mediante la medición de ATP utilizando CellTiter Glo (Promega) (figura 23). Dado que las células NK92 expresan cantidades reducidas de CD25, pudo detectarse una diferencia entre los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprendían IL-2 de tipo salvaje y los inmunoconjugados que comprendían IL-2 mutante cuádruple en el ensayo de proliferación; sin embargo, bajo condiciones de saturación, ambos alcanzaron una inducción absoluta similar de la proliferación.

En un experimento posterior, los presentes inventores estudiaron los efectos del inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 dirigido a FAP de afinidad madurada de sobre la inducción de la fosforilación de STAT5 en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 y con proleuquina en células NK humanas, células T CD4<sup>+</sup>, células T CD8<sup>+</sup> y células T<sub>reg</sub> procedentes de PBMC humanas (figura 24). Para las células NK y las células T CD8<sup>+</sup>, las cuales muestran un nivel de expresión de CD25 nulo o muy bajo (es decir, la señalización de IL-2R se encuentra mediada por el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ ), los resultados demuestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  que la proleuquina, y que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab era sólo muy ligeramente menos potente que el constructo Fab-IL-2 wt-Fab. En las células T CD4<sup>+</sup> que muestran una rápida regulación positiva de CD25 al ser estimuladas, Fab-IL-2 qm-Fab resultó ser menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab, aunque todavía mostró una inducción comparable de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación. Esto contrasta con las células T<sub>reg</sub>, en las que la potencia de Fab-IL-2 qm-Fab se encontraba significativamente reducida en comparación con el constructo Fab-IL-2 wt-Fab debido a la elevada expresión de CD25 sobre las células T<sub>reg</sub> y la consecuente elevada afinidad de unión del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para CD25 sobre las células T<sub>reg</sub>. Como consecuencia de la eliminación de la unión de CD25 en el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab, la señalización de IL-2 en células T<sub>reg</sub> únicamente resultó activada por el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  a concentraciones a las que la señalización de IL-2R sobre las células efectoras CD25-negativas resulta activada por el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$ . Los valores pM EC50 respectivos se proporcionan en la Tabla 13.

TABLA 13. Inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  a partir de células NK por parte de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab de 28H1 con diana en FAP que comprenden polipéptidos IL-2 mutantes.

EC <sub>50</sub> [pM]	Células NK	Células T CD8 <sup>+</sup>	Células T CD4 <sup>+</sup>	Células T <sub>reg</sub>
Proleuquina	222	1071	92	1
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1	3319	14458	3626	15
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	3474	20583	70712	19719

En otro conjunto de experimentos, se investigó la actividad biológica de los inmunoconjugados IgG-IL-2 y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 con diana en FAP en varios ensayos celulares.

Se estudiaron los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1, para la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  por parte de células NK92 inducida por la activación de la señalización de IL-2R  $\beta\gamma$ . La figura 49 muestra que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP resultaba igualmente eficaz en la inducción de la liberación de IFN- $\gamma$  que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1 de afinidad madurada.

Los presentes inventores también estudiaron los efectos del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP sobre la fosforilación de STAT5 en comparación con los inmunoconjugados Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1, así como de la proleuquina, sobre células NK humanas, células T CD4<sup>+</sup>, células T CD8<sup>+</sup> y células Treg procedentes de células PBMC. Los resultados de estos experimentos se muestran en la figura 50. Para las células NK y T CD8<sup>+</sup>, el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 era <10 veces menos potente en la inducción de la fosforilación de STAT5 que la proleuquina, aunque ligeramente más potente que los inmunoconjugados Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1. En células T CD4<sup>+</sup> el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 era menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1, aunque ligeramente más potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 y todavía mostraba inducción de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación, comparable a la proleuquina y a Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1. Lo anterior contraste con las células T<sub>reg</sub>, en las que la potencia de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basado en 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 se encontraba significativamente reducida en comparación con el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab.

Conjuntamente los resultados indican que la IL-2 mutante cuádruple descrita en la presente memoria es capaz de

activar la señalización de IL-2R mediante el heterodímero IL-2R  $\beta\gamma$  de modo similar a la IL-2 de tipo salvaje, pero que no resulta en una estimulación preferente de las células T<sub>reg</sub> respecto a otras células efectoras.

#### Ejemplo 8

5 Se evaluaron los efectos antitumorales de los inmunocombinados Fab-IL-2 qm-Fab con diana en FAP in vivo en comparación con los inmunocombinados Fab-IL-2 wt-Fab con diana en FAP en modelos de xenoinjerto de ACHN y singénicos de LLC1. Todos los inmunocombinados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP (que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple) reconocían la FAP murina, así como el IL-2R murino. Aunque el modelo de xenoinjerto de ACHN en ratones transgénicos para Fc $\gamma$ RIII SCID-humanos es fuertemente positivo para FAP en las IHC, es un modelo de inmunocompromiso y únicamente puede reflejar mecanismos inmunológicos efectores mediados por células NK y/o macrófagos/monocitos, pero no presenta inmunidad mediada por células T y de esta manera no puede reflejar AICD o efectos mediados por células T<sub>reg</sub>. El modelo singénico LLC1, en contraste en ratones totalmente inmunocompetentes, también puede reflejar mecanismos inmunológicos efectores mediados por células T adaptativos, aunque muestra un nivel de expresión bastante reducido de FAP en el estroma murino. De esta manera, cada uno de dichos modelos refleja parcialmente la situación observada en los tumores humanos.

#### Modelo de xenoinjerto de carcinoma renal ACHN

20 Se sometieron a ensayo inmunocombinados Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 con diana en FAP, utilizando la línea celular ACHN de adenocarcinoma de las células renales, inyectados intrarrenalmente en ratones transgénicos para Fc $\gamma$ RIII SCID-humanos. Las células ACHN se obtuvieron originalmente de la ATCC (American Type Culture Collection) y tras la expansión se depositaron en el banco celular propio de Glycart. Las células ACHN se cultivaron en DMEM que contenía FCS al 10%, a 37°C en una atmósfera saturada de agua con 5% de CO<sub>2</sub>. Se utilizó el pase 18 in vitro para la inyección intrarrenal, con una viabilidad de 98,4%. Se realizó una pequeña incisión (2 cm) en el flanco derecho y pared peritoneal de ratones SCID anestesiados. Se inyectaron cincuenta  $\mu$ l de suspensión celular (1x10<sup>6</sup> células ACHN en medio AimV) 2 mm subescapularmente en el riñón. Se cerraron las heridas de la piel y de la pared peritoneal con grapas. Los ratones SCID-Fc $\gamma$ RIII hembra (GLYCART-RCC), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento (criados en RCC, Suiza) se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud. Los ratones recibieron inyecciones intrarrenales el día de estudio 0 de 1x10<sup>6</sup> células ACHN, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200  $\mu$ l de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y los grupos de tratamiento, inmunocombinado Fab-IL-2 wt-Fab o Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunocombinado por cada 200  $\mu$ l, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 25 muestra que ambos inmunocombinados, Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, mediaron en una eficacia superior en términos de mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo, con una ventaja para el inmunocombinado Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 frente a Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 en términos de eficacia.

45 TABLA 14-A

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
Fab-IL-2-Fab de tipo salvaje de 4G8=FAP 4G8 wt	20 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	1,45
Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de 4G8=FAP 4G8 qm	20 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	4,25

#### Modelo singénico LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis

50 Los inmunocombinados Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 con diana en FAP se sometieron a ensayo utilizando la línea celular LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis de ratón, inyectada i.v. en ratones Black 6. Las células LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis se obtuvieron originalmente de la ATCC y tras la expansión se depositaron en el banco celular propio de Glycart. La línea celular tumoral se cultivó rutinariamente en DMEM que contenía FCS al 10% (Gibco) a 37°C en una atmósfera saturada de agua con 5% de CO<sub>2</sub>. Se utilizó el pase 10 para el trasplante, con una viabilidad de 97,9%. Se inyectaron i.v. 2x10<sup>6</sup> células por animal en la vena de la cola en 200  $\mu$ l de medio de cultivo celular Aim V (Gibco). Los ratones Black 6 (Charles River, Alemania), de 8 a 9 semanas de edad

al inicio del experimento se mantuvieron bajo condiciones específicas libres de patógenos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud. Los ratones recibieron inyecciones i.v. el día de estudio 0 de  $2 \times 10^5$  células LLC1, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200  $\mu$ l de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y los grupos de tratamiento, inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 o Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200  $\mu$ l, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 26 muestra que los constructos Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 ó Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 mediaron en una eficacia superior en términos de una mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo.

TABLA 14-B

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	concentración (mg/ml)
Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de 28H1=FAP 28H1 qm	30 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	2,74
Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de 4G8= FAP 4G8 qm	30 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	4,25

En otro experimento, los inmunoconjugados Fab-IL2 wt-Fab de 28H1 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 con diana en FAP se sometieron a ensayo utilizando la misma línea celular LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis de ratón, inyectada i.v. en ratones Black 6. Se utilizó el pase 9 para el trasplante, con una viabilidad de 94,5%. Se inyectaron i.v.  $2 \times 10^6$  células por animal en la vena de la cola en 200  $\mu$ l de medio de cultivo celular Aim V (Gibco). Los ratones recibieron inyecciones i.v. el día de estudio 0 de  $2 \times 10^5$  células LLC1, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200  $\mu$ l de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y el grupo de tratamiento, de constructos Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 ó Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200  $\mu$ l, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 27 muestra que ambos inmunoconjugados, Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1, mediaron en una eficacia superior en términos de mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo, con una ligera ventaja para el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 frente a Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 en términos de eficacia.

TABLA 14-C

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	concentración (mg/ml)
Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de 28H1=FAP 28H1 qm	45 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	2,74
Fab-IL-2-Fab de tipo salvaje de 28H1= FAP 28H1 wt	45 $\mu$ g	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	1,66

Ejemplo 9

El Fab-IL-2 qm-Fab basado en 4G8 con diana en FAP seguidamente se comparó con el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab basado en 4G8 con diana en FAP en un estudio de siete días de toxicidad intravenosa y toxicocinético en ratones Black 6. La Tabla 15 muestra el diseño de los estudios de toxicidad y toxicocinéticos.

TABLA 15. Diseño de los estudios.

Grupo	Tipo	Dosis ( $\mu$ g/kg)	Objetivo
1	DPBS	0	Control
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	Titulación de la toxicidad
3		9,0	
4		Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	



5		9,0	
6	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	Estudio toxicocinético
7		9,0	
8	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	
9		9,0	

El objetivo del presente estudio era caracterizar y comparar los perfiles de toxicidad y toxicocinéticos de Fab-IL2-Fab de tipo salvaje (wt) de 4G8 con diana en FAP interleuquina-2 (IL-2) y Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de G48 con diana en FAP IL-2 (qm) tras la administración intravenosa una vez al día en ratones macho no portadores de tumor durante 7 días. Para este estudio, 5 grupos de 5 ratones macho/grupo recibieron administraciones intravenosas de 0 (control de vehículo), 4,5 ó 9 µg/g/día de IL-2 wt, o de 4,5 ó 9 µg/g/día de IL-2 qm. Cuatro grupos adicionales de 6 ratones macho/grupo recibieron 4,5 ó 9 µg/g/día de IL-2 wt o de 4,5 ó 9 µg/g/día de IL-2 qm con el fin de evaluar las toxicocinéticas. Se cambió la duración del estudio de 7 días a 5 días debido a la observación de indicios clínicos en los animales que recibieron 4,5 y 9 µg/g/día de IL-2 wt. La evaluación de la toxicidad se basó en la mortalidad, en observaciones vitales, peso corporal y patología clínica y anatómica. Se extrajo sangre en diversos puntos temporales de los animales en los grupos toxicocinéticos para el análisis toxicocinético. Los datos toxicocinéticos demostraron que los ratones tratados con IL-2 wt o con IL-2 qm presentaban niveles plasmáticos medibles hasta la última extracción, indicando que los ratones habían estado expuestos a los compuestos respectivos durante todo el tratamiento. Día 1 Los valores AUC0-inf sugieren una exposición comparable de IL-2 wt e IL-2 qm a ambos niveles de dosis. Se extrajeron muestras dispersas el día 5, mostrando concentraciones plasmáticas equivalentes a las del día 1, que no sugerían la acumulación tras 5 días de dosificación de cualquiera de los compuestos. En mayor detalle, se obtuvieron los resultados siguientes.

Toxicocinética

La Tabla 16 resume los parámetros toxicocinéticos plasmáticos medios para Fab-IL-2 qm-Fab y Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 con diana en FAP determinados mediante WinNonLin versión 5.2.1 y una ELISA comercial específica de kappa (kit de cuantificación ELISA kappa humano, Bethyl Laboratories).

TABLA 16.

Parámetro	unidades	Grupo 6 4G8- FAP-tipo salvaje IL-2	Grupo 7 4G8- FAP-tipo salvaje IL-2	Grupo 8 4G8- FAP-mutante IL- 2	Grupo 9 4G8- FAP-mutante IL- 2
C <sub>max</sub>	ng/ml	47198	97986	60639	146416
C <sub>max</sub> /Dosis ABC	(ng/ml)/(µg/g)	0,011	0,011	0,0135	0,016
ABC/Dosis	ng*h/ml	331747	747449	355030	926683
T1/2z	(ng*h/ml)/(µg/g) h	0,074	0,083	0,079	0,103
Dosis original	µg/g	4,5	9	4,5	9
Vía		IV	IV	IV	IV

\*Los parámetros toxicocinéticos se calcularon en WinNonlin versión 5.2.1 utilizando análisis no compartimentalizado

Las concentraciones en suero individuales se proporcionan a continuación:

Grupo (dosis)	Día del sangrado	Tiempo (h)	Animal	Conc. en suero (ng/ml)	Conc. media (ng/ml)
Grupo 6 (4.5 µg/g) Fab-IL2-Fab WT de 4G8	1	1	26	64241	47198
			27	30155	
	1	5,5	28	14693	15784
			29	16875	
	1	24	30	318	419
			31	520	
	5	5,5	29	13061	13335
			30	13620	
			31	13325	

Grupo 7 (9 µg/g) Fab-II2-Fab WT de 4G8	1	1	32 33	101208 94764	97986
	1	5,5	34 35	35766 32359	34062
	1	24	36 37	573 588	580
	5	5,5	32 33 35 36	31779 51143 53409 13562	37473
	1	1	38 39	73326 47953	60639
Grupo 8 (4.5 µg/g) Fab-II2-Fab mutante de 4G8	1	5,5	40 41	12168 14371	13269
	1	24	42 43	494 487	490
	5	5,5	40 41	6561 15352	10957
	5	24	38 39 42 43	608 543 1298 437	721
	1	1	44 45	162970 129862	146416
Grupo 9 (9 µg/g) Fab-II2-Fab mutante de 4G8	1	5.5	46 47	20475 29125	24800
	1	24	48 49	478 509	493
	5	5.5	46 47	20504 75557	48031
	5	24	44 45 48 49	634 796 661 719	703

Estos datos demuestran que tanto Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 como Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 mostraban propiedades farmacocinéticas comparables con una exposición ligeramente superior para Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8.

## 5 Mortalidad

En el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 con diana en FAP, se produjo mortalidad relacionada con el tratamiento en un animal previamente a la necropsia, el día 5. Se observaron hipoactividad, piel fría y postura encorvada previamente a la muerte. Este animal probablemente murió debido a una combinación de infiltración celular en el pulmón que se vio acompañada de edema y hemorragia y necrosis marcada de la médula ósea. Se resumen los datos de mortalidad en la Tabla 17.

TABLA 17. Mortalidad el día 5.

Grupo	Tipo	Dosis (µg/kg)	Muertos	Sacrificio por toxicidad severa**	Total
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	0/5	5/5	5/5
3		9	1/5*	4/5	4/5
4	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	1/6	5/6	6/6
7		9	2/6	4/6	6/6
8	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

\* progresando a necrosis

\*\* el estudio se planificó para que durase siete días, pero todos los ratones tratados con el inmunocombinado de IL-2 de tipo salvaje resultaron afectados marcadamente llegado el día 5 y se sacrificaron ya que no se esperaba

que sobreviviesen.
--------------------

#### Observaciones clínicas

5 Se registraron observaciones de hipoactividad, piel fría y postura encorvada en los animales que recibieron 4,5 y 9  $\mu\text{g/g/día}$  de IL-2 wt. Se resumen las observaciones clínicas en la Tabla 18.

TABLA 18. Observaciones clínicas el día 5.

Grupo	Tipo	Dosis ( $\mu\text{g/kg}$ )	Postura encorvada	Hipoactivo	Frío al tacto
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	4/5	4/5	5/5
3		9	5/5	5/5	5/5
4	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	6/6	2/6	2/6
7		9	6/6	5/6	6/6
8	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

#### Peso corporal

10 Se observó una reducción moderada del peso corporal tras 5 días de tratamiento en animales que recibieron 4,5 y 9 (9% y 11%, respectivamente)  $\mu\text{g/g/día}$  de IL-2 wt. Se observó una ligera reducción del peso corporal tras 5 días de tratamiento en animales que habían recibido 4,5 ó 9 (2% y 1%, respectivamente)  $\mu\text{g/g/día}$  de IL-2 qm. También se observó una reducción moderada (9%) de peso corporal en los controles de vehículo tras 5 días de tratamiento. Sin embargo, el porcentaje de reducción había sido de 5% si se hubiese excluido un valor potencialmente atípico (animal nº 3). La pérdida de peso corporal en el grupo de vehículo podría atribuirse a estrés.

#### Hematología

20 Se observó un recuento reducido de plaquetas en los animales que recibieron 4,5 (de ~4,5 veces) y 9  $\mu\text{g/g/día}$  (de ~11 veces) Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, lo que se correlaciona con un número reducido de megacariocitos en la médula ósea, así como efectos sistémicos de consumo (fibrina) en el bazo y pulmón de estos animales (ver la sección de histopatología, posteriormente). Estos resultados indican que el recuento plaquetario reducido probablemente se debe a los efectos combinados del consumo y reducción de la producción/hiperplasia en la médula ósea debido al incremento de la producción de linfocitos/células mieloides como efecto directo o indirecto de la IL-2.

30 Los resultados hematológicos de relación incierta con la administración de compuesto consistían de una reducción del recuento absoluto de linfocitos con Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 a las dosis de 4,5 (de ~5 veces) y de 9  $\mu\text{g/g}$  (de ~3 veces) en comparación con el valor medio del grupo de control de vehículo. Estos resultados no presentan una clara dependencia de la dosis, pero podrían considerarse secundarios a los efectos asociados al estrés en las observaciones vitales o una farmacología exagerada del compuesto (migración de los linfocitos al interior de los tejidos). No se produjeron cambios hematológicos relacionados con el tratamiento atribuibles a la administración de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Unos cuantos resultados hematológicos aislados eran estadísticamente diferentes de sus controles respectivos. Sin embargo, estos resultados eran de insuficiente magnitud para sugerir una relevancia patológica.

#### Patología macroscópica e histopatología

40 Entre los resultados generales relacionados con el tratamiento se incluyen un agrandamiento del bazo, observado en 5/5 y 4/5 de los ratones de los grupos de 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, respectivamente, y en 1/5 en los grupos de tratamiento de 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8.

45 Se observaron resultados histopatológicos relacionados con el tratamiento en los grupos que recibieron 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y que recibieron 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, en pulmón, médula ósea, hígado, bazo y timo, con diferencias de incidencia, gradación de la severidad o naturaleza de los cambios, tal como se informa posteriormente.

50 Los resultados histopatológicos relacionados con el tratamiento en el pulmón consistían de infiltración mononuclear leve a marcada en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y marginalmente en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9  $\mu\text{g/g}$  de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. La infiltración mononuclear consistía de linfocitos

(algunos de los cuales se observó que presentaba gránulos citoplasmáticos), así como de macrófagos reactivos. Estas células se observó con frecuencia que presentaban patrones vasocéntricos, frecuentemente observando marginación dentro de los vasos pulmonares. También se observaron estas células circundando a los vasos, aunque en casos más severos el patrón era más difuso. Se observó hemorragia marginal a leve en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y marginalmente en 2/5 ratones en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Aunque la hemorragia se observó con mayor frecuencia perivascularmente, en casos más severos se observó en los espacios alveolares. Se observó edema leve a moderado en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y marginalmente en 5/5 ratones en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Aunque se observó edema con frecuencia perivascularmente, en casos más severos también se observó en los espacios alveolares. Se observó degeneración celular marginal y cariorrexis en 2/5 y 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, respectivamente, y consistía de degeneración de leucocitos infiltrantes o reactivos. Los animales seleccionados con tinciones de MSB eran positivos para fibrina, observada dentro de los pulmones de los animales en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, lo que se correlaciona en parte con el recuento reducido de plaquetas en estos animales.

Entre los cambios relacionados con el tratamiento en la médula ósea se incluían una celularidad global de la médula ósea marginal a levemente incrementada en 5/5 ratones y en 2/5 ratones de ambos grupos de 4,5 y de 5/5 y 2/5 ratones en ambos grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, respectivamente. Lo anterior se caracterizaba por una hiperplasia de linfocitos-mielocitos marginal a moderadamente incrementada en dichos grupos, apoyada en parte por un número incrementado de células T CD3-positivas dentro de la médula y senos (específicamente linfocitos T, confirmados mediante inmunohistoquímica con el marcador pan-células T CD3 en animales seleccionados). El incremento de las células T CD3-positivas fue moderado en ambos grupos de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y marginal a leve en ambos grupos de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Las reducciones marginales a leves de los megacariocitos se observaron en 2/5 ratones en el grupo de 4,5 y 5/5 ratones en el de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y se observaron reducciones marginales a moderadas de los precursores eritroides en 3/5 ratones en el grupo de 4,5 y de 5/5 en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Se observó necrosis de la médula ósea en 1/5 ratones en el grupo de 4,5 (mínima) y en 5/5 ratones en el grupo de 9 (leve a marcada) µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. El número reducido de megacariocitos en la médula ósea se correlaciona con un recuento reducido de plaquetas, que podría deberse a una hiperplasia directa de la médula ósea debido al número incrementado de linfocitos/precursores mieloides y/o a necrosis de la médula ósea, y/o al consumo de plaquetas debido a la inflamación de diversos tejidos (ver bazo y pulmón). El número reducido de precursores eritroides observado en la médula ósea no se correlacionaba con los resultados hematológicos de sangre periférica probablemente debidos a efectos temporales (observados en la médula ósea antes que en la sangre periférica) y la vida media más larga de los eritrocitos periféricos (en comparación con las plaquetas). El mecanismo de necrosis de la médula ósea podría ser secundario debido a la clara hiperplasia de la cavidad de la médula (debido a la producción y crecimiento de linfocitos/células mieloides), a la liberación sistémica o local de citoquinas procedentes de tipos celulares proliferantes, posiblemente relacionada con efectos locales de hipoxia o a otros efectos farmacológicos del compuesto.

Los resultados relacionados con el tratamiento en el hígado consistían de infiltrados leves a moderados principalmente vasocéntricos de células mononucleares y necrosis de células individuales marginal a leve en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Se observó necrosis marginal de células individuales en 2/5 y 4/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. El infiltrado mononuclear consistía principalmente de linfocitos (concretamente linfocitos T, confirmado mediante inmunohistoquímica con el marcador pan-células T CD3 realizado en animales seleccionados) que se observaron con mayor frecuencia en posición vasocéntrica, así como marginados dentro de los vasos centrales y portales. Algunos animales seleccionados para la tinción inmunohistoquímica para F4/80 mostraron un número y tamaño (activado) incrementados de macrófagos/células de Kupffer distribuidos en la totalidad de los sinusoides hepáticos en los grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8.

Los resultados relacionados con el tratamiento en el bazo consistían de una hiperplasia/infiltración linfoide marcada e hiperplasia/infiltración de macrófagos leve a moderada en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 e hiperplasia/infiltración linfoide leve a moderada con hiperplasia/infiltración de macrófagos marginal a leve en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. La inmunohistoquímica para los grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 mostraba patrones diferentes, según el marcador pan-células T CD3, así como el marcador de macrófagos F4/80. Para el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, el patrón de inmunorreactividad de células T y macrófagos permaneció principalmente dentro de las áreas de pulpa roja, debido a que la arquitectura de los folículos primarios había sido alterada por la linfocitosis y necrosis (descritas posteriormente). Para el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, unas tinciones especiales demostraron un patrón similar al del control de vehículo, aunque con expansión de la pulpa blanca de la vaina linfoide periarteriolar (PALS), en una población de células T y un área expandida de mayor tamaño de pulpa roja. También resultaba evidente la positividad de las células T y macrófagos dentro de la pulpa roja, con un patrón similar al del grupo de control de vehículo, aunque expandido. Estos resultados se correlacionan con los resultados

5 macroscópicos del bazo agrandado. Se observó necrosis marginalmente en 3/5 ratones y marginal a levemente en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, respectivamente. La necrosis habitualmente se localiza en torno al área de los folículos primarios y los animales seleccionados mostraron un resultado positivo de la tinción MSB para fibrina en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, lo que se correlaciona en parte con el recuento reducido de plaquetas observado en estos animales. Se observó linfocitosis en los grupos de 4,5 µg/g (mínima a leve) y de 9 µg/g (moderada a marcada) de Fab-IL-2 wt-Fab.

10 Entre los resultados relacionados con el tratamiento en el timo se incluyen incrementos mínimos a leves de linfocitos en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y en el de 4,5 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab. El córtex y la médula no eran individualmente evidentes en los grupos de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, pero la inmunohistoquímica para el marcador pan-células T (CD3) en animales seleccionados en los grupos de 9 µg/g de Fab-IL2 wt-Fab de 4G8 y de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 mostró una fuerte positividad para la mayoría de las células dentro del timo. El recuento incrementado de linfocitos en el timo se consideró un efecto farmacológico directo de ambos compuestos, en donde IL-2 indujo la proliferación de linfocitos migrantes al timo (células T) desde la médula ósea para su diferenciación y expansión clonal adicionales. Lo anterior se produjo en todos los grupos excepto en el de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, que probablemente es un efecto temporal. La linfocitosis fue leve en el grupo de 4,5 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, y moderada a marcada en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Se observó un agotamiento linfoide moderado en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Aunque estos resultados aparentemente son robustos en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, estos animales se describieron como moribundos el día 5, y la linfocitosis leve a marcada, así como el agotamiento linfoide moderado, podrían relacionarse con dicha observación vital (efectos relacionados con el estrés debido a una mala condición física).

25 Los resultados histopatológicos de relación incierta con la administración del compuesto en el hígado consistían de un infiltrado marginal de células mixtas (linfocitos y macrófagos)/activación observada en forma de pequeños focos/microgranulomas dispersos aleatoriamente en todo el hígado en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Este cambio marginal también se observó en el grupo de control de vehículo, aunque con menores incidencia y severidad. Se observó dilatación glandular y atropía del estómago marginal a levemente en 5/5 ratones y se observó atrofia vellosa de la mucosa ileal marginalmente en 3/5 ratones en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Este resultado muy probablemente es atribuible a una mala condición física, observada en estos ratones, tal como un peso corporal reducido, especialmente en el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 en las observaciones vitales.

35 Entre los resultados en el sitio de inyección se incluyen un infiltrado de células mixtas, edema perivascular y miodegeneración que se observó igualmente en el control de vehículo y en los grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Un animal presentaba necrosis epidérmica. Estos resultados no se atribuyeron al tratamiento o tratamientos mismos, sino a la inyección i.v. diaria y a la manipulación de la cola. Otro animal presentaba infiltración de macrófagos del músculo esquelético (observada en la sección histológica de tejido pulmonar) asociada a miodegeneración y mioregeneración probablemente debidas a una lesión crónica y no se atribuyó al tratamiento. Se observó agotamiento linfoide marginal en 3/5 y 4/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, respectivamente, y se atribuyó con toda probabilidad a cambios fisiológicos normales observados en el timo a medida que envejecen los ratones (también se observaron con una incidencia y severidad similares, 4/5 ratones, en los animales que recibieron control de vehículo).

45 En conclusión, la administración intravenosa diaria de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 ó de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 a dosis de 4,5 ó 9 µg/g/día durante 5 días en ratones macho resultó en resultados histológicos relacionados con el tratamiento similares con ambos compuestos. Sin embargo, los resultados fueron generalmente más prevalentes y más severos con Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 con diana en FAP en el pulmón (figuras 28 y 29) (infiltración mononuclear consistente de linfocitos y macrófagos reactivos, hemorragia y edema), médula ósea (linfo-mielo-hiperplasia y celularidad incrementada), hígado (figura 30) (necrosis de células individuales, incremento del número y activación de las células de Kupffer/macrófagos), bazo (macroscópicamente agrandado, infiltración/hiperplasia de macrófagos y linfocitos) y timo (linfocitos incrementados). Además, la mortalidad, linfocitosis, necrosis o degeneración celular en el pulmón, bazo, médula ósea y timo, así como el número reducido de megacariocitos y eritrocitos en la médula ósea y el recuento reducido de plaquetas en sangre periférica se observó únicamente en animales en los que se administró IL-2 wt. Basándose en los resultados de patología clínica y anatómica, así como en observaciones clínicas, y con la exposición sistémica comparable de ambos compuestos, la IL-2 qm bajo las condiciones del presente estudio mostró una toxicidad sistémica marcadamente inferior tras 5 dosis que la IL-2 wt.

60 Ejemplo 10

Inducción de la secreción de IFN-γ por parte de células NK por IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple

Se sometieron a ayuno células NK-92 durante 2 horas antes de sembrar 100.000 células/pocillo en una placa con

fondo F de 96 pocillos. Se titularon los constructos de IL-2 en células NK-92 sembradas. Tras 24 ó 48 horas, las placas se centrifugaron antes de recoger los sobrenadantes para determinar la cantidad de IFN- $\gamma$  humana utilizando un ELISA comercial de IFN- $\gamma$  (BD nº 550612).

5 Se sometieron a ensayo dos preparaciones diferentes del propio laboratorio de IL-2 de tipo salvaje (probablemente de perfiles de O-glucosilación ligeramente diferentes, ver el Ejemplo 2), una IL-2 de tipo salvaje disponible comercialmente (proleuquina) e IL-2 mutante cuádruple preparada en el propio laboratorio (primer lote).

10 La figura 31 muestra que la IL-2 mutante cuádruple es igual de potente que la IL-2 de tipo salvaje obtenida comercialmente (proleuquina) o producida en el propio laboratorio, en la inducción de la secreción de IFN- $\gamma$  por parte de células NK durante 24 (A) ó 48 horas (B).

#### Ejemplo 11

##### 15 Inducción de la proliferación de células NK por IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple

Se sometieron a ayuno células NK-92 durante 2 horas antes de sembrar 10.000 células/pocillo en una placa con fondo F transparente de 96 pocillos. Se titularon los constructos de IL-2 en células NK-92 sembradas. Tras 48 horas, se midió el contenido de ATP para determinar el número de células viables utilizando el kit "CellTiter-Glo Luminiscent Cell Viability Assay" de Promega siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se sometieron a ensayo las mismas preparaciones de IL-2 que en el Ejemplo 10.

25 La figura 32 muestra que todas las moléculas sometidas ensayo fueron capaces de inducir la proliferación de las células NK. A concentraciones bajas (<0,01 nM), la IL-2 mutante cuádruple era ligeramente menos activo que la IL-2 de tipo salvaje producida por el propio laboratorio, y todas las preparaciones propias eran menos activa que la IL-2 de tipo salvaje obtenida comercialmente (proleuquina).

30 En un segundo experimento, se sometieron a ensayo las preparaciones de IL-2 siguientes: IL-2 de tipo salvaje (grupo 2), IL-2 mutante cuádruple (primer y segundo lotes).

35 La figura 33 muestra que todas las moléculas sometidas a ensayo presentaban una actividad aproximadamente igual en la inducción de la proliferación de células NK, siendo las dos preparaciones de IL-2 mutante sólo mínimamente menos activas que las preparaciones de IL-2 de tipo salvaje a las concentraciones más bajas.

#### Ejemplo 12

##### Inducción de la proliferación de las PBMC humanas por inmunoconjugados que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple

40 Se prepararon células mononucleares de sangre periférica (PBMC) utilizando Histopaque-1077 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, USA). Brevemente, se extrajo sangre venosa de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas. La sangre se diluyó 2:1 con PBS que no contenía calcio ni magnesio y se vertió en una capa sobre Histopaque-1077. El gradiente se centrifugó a 450xg durante 30 minutos a temperatura ambiente (TA) sin interrupciones. La interfase que contenía las PBMCs se recogió y se lavó con PBS tres veces (350xg seguido de 300xg durante 10 minutos a RT).

45 A continuación, las PBMCs se marcaron con CFSE 40 nM (succinimidil-éster de carboxifluoresceína) durante 15 minutos a 37°C. Las células se lavaron con 20 ml de medio antes de recuperar las PBMC marcadas durante 30 minutos a 37°C. Las células se lavaron, se contaron y se sembraron 100.000 células en placas de fondo U de 96 pocillos. Se midieron cantidades de proleuquina prediluida (IL-2 de tipo salvaje disponible comercialmente) o inmunoconjugados de IL-2 sobre las células sembradas, que se incubaron durante los periodos de tiempo indicados. Tras 4 a 6 días, las células se lavaron, se tiñeron para los marcadores de superficie celular apropiados y se analizaron mediante FACS utilizando un BD FACScan. Las células NK se definieron como células CD3<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>, células T CD4 como CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>-</sup> y células T CD8 como CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>.

55 La figura 34 muestra la proliferación de las células NK tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días. Todos los constructos sometidos a ensayo indujeron la proliferación de células NK de una manera dependiente de la concentración. La proleuquina resultó más eficaz que los inmunoconjugados a concentraciones más bajas; sin embargo, esta diferencia ya no existía a las concentraciones más altas. En puntos temporales anteriores (día 4), los constructos de IgG-IL2 aparentemente eran ligeramente más potentes que los constructos Fab-IL2-Fab. En puntos temporales posteriores (día 6), todos los constructos presentaban una eficacia comparable, siendo el constructo Fab-IL2 qm-Fab menos potente a las concentraciones bajas.

La figura 35 muestra la proliferación de las células T CD4 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días. Todos los constructos sometidos a ensayo indujeron la proliferación de células CD4 de una manera dependiente de la concentración. La proleuquina presentó una actividad más alta que los inmunoconjugados, y los inmunoconjugados que comprendían IL-2 de tipo salvaje fueron ligeramente más potentes que los que comprendían IL-2 mutante cuádruple. Respecto a las células NK, el constructo Fab-IL2 qm-Fab presentaba la actividad más baja. Muy probablemente, las células CD4 proliferantes son células T parcialmente reguladoras, por lo menos para los constructos de IL-2 de tipo salvaje.

La figura 36 muestra la proliferación de las células T CD8 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días. Todos los constructos sometidos a ensayo indujeron la proliferación de células CD8 de una manera dependiente de la concentración. La proleuquina presentó una actividad más alta que los inmunoconjugados, y los inmunoconjugados que comprendían IL-2 de tipo salvaje fueron ligeramente más potentes que los que comprendían IL-2 mutante cuádruple. Respecto a las células NK y T CD4, el constructo Fab-IL2 qm-Fab presentaba la actividad más baja.

La figura 37 ilustra los resultados de otro experimento, en el que se compararon IgG-IL-2 de 28H1, que comprendía IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, y proleuquina. El tiempo de incubación fue de 6 días. Tal como se muestra en la figura, los tres constructos de IL-2 inducen la proliferación de las células NK (A) y T CD8 (C) de una manera dependiente de dosis con una potencia similar. Para las células T CD4 (B), el inmunoconjugado IgG-IL2 qm presentó una actividad más baja, particularmente a concentraciones intermedias, lo que podría deberse a su falta de actividad sobre las células T CD25-positivas (incluyendo las reguladoras) que son un subconjunto de las células T CD4.

#### Ejemplo 13

##### Activación de las células efectoras por IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple (ensayo pSTAT5)

Se prepararon PBMC tal como se ha descrito anteriormente. Se sembraron 500.000 PBMC/pocillo en placas de fondo U de 96 pocillos y se dejaron en reposo durante 45 minutos a 37°C en medio RPMI que contenía FCS al 10% y Glutamax al 1% (Gibco). A continuación, las PBMC se incubaron con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje de producción propia o IL-2 mutante cuádruple a las concentraciones indicadas durante 20 minutos a 37°C para inducir la fosforilación de STAT5. Posteriormente, las células se fijaron inmediatamente (tampón BD Cytotfix) durante 10 minutos a 37°C y se lavaron una vez, seguido de una etapa de permeabilización (tampón III BD Phosflow Perm) durante 30 minutos a 4°C. A continuación, las células se lavaron con PBS/BSA al 0,1% y se tiñeron con mezclas de anticuerpos FACS para la detección de las células NK (CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>), de las células T CD8<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>), de las células T CD4<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>/CD127<sup>+</sup>) o las células T<sub>reg</sub> (CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>/CD127<sup>-</sup>/FoxP3<sup>+</sup>), así como pSTAT5 durante 30 minutos a RT en la oscuridad. Las células se lavaron dos veces con PBS/BSA al 0,1% y se resuspendieron en PFA al 2% antes del análisis de citometría de flujo (BD FACSantoll). La figura 38 muestra la fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje producida en el propio laboratorio (grupo 2) e IL-2 mutante cuádruple (lote 1). Las tres preparaciones de IL-2 eran igualmente potentes en la inducción de la fosforilación STAT en células NK, así como en células T CD8. En las células T CD4 e incluso más en células T reguladoras, la IL-2 mutante cuádruple presentaba una actividad menor que las preparaciones de IL-2 de tipo salvaje.

#### Ejemplo 14

##### Activación de las células efectoras por IgG-IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple (ensayo pSTAT5)

Las condiciones experimentales fueron las indicadas anteriormente (ver el Ejemplo 13). La figura 39 muestra la fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IgG-IL-2 que comprende IL-2 de tipo salvaje o IgG-IL-2 que comprende IL-2 mutante cuádruple. En todos los tipos celulares, la proleuquina era más potente en la inducción de la fosforilación STAT que los inmunoconjugados IgG-IL-2. Los constructos IgG-IL-2 de tipo salvaje y mutantes cuádruples fueron igualmente potentes tanto en células NK como en células T CD8. En las células T CD4 e incluso más en células T reguladoras, la IgG-IL-2 mutante cuádruple presentó una actividad menor que el inmunoconjugado IgG-IL-2 de tipo salvaje.

#### Ejemplo 15

##### Dosis máxima tolerada (DMT) de inmunoconjugados Fab-IL2 wt-Fab con diana en FAP y Fab-IL2 qm-Fab

Se sometieron a ensayo dosis crecientes de inmunoconjugados Fab-IL2-Fab con diana en FAP, que comprendían

5 IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm), en ratones Black 6 inmunocompetentes libres de tumor. Los ratones Black 6 hembra (Charles River, Alemania), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento, se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras la llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para aclimatarse al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo de su salud de manera periódica.

10 Los ratones recibieron inyecciones i.v. una vez al día durante 7 días de Fab-IL2 wt-Fab de 4G8 a dosis de 60, 80 y 100 µg/ratón o de Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 a dosis de 100, 200, 400, 600 y 1.000 µg/ratón. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200 µl de la solución apropiada. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario.

15 La figura 40 muestra que la MTD (dosis máxima tolerada) para Fab-IL2 qm-Fab era 10 veces mayor para Fab-IL2 wt-Fab, es decir 600 µg/ratón diariamente durante 7 días para Fab-IL2 qm-Fab frente a 60 µg/ratón diarios durante 7 días para Fab-IL2 wt-Fab.

TABLA 19

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	concentración (mg/ml)
Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	60, 80, 100 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 100 mM, pH 6,7	3,32 (=solución madre)
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	100, 200, 400, 600, 1.000 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 100 mM, pH 6,7	4,25 (=solución madre)

20 Ejemplo 16

Farmacocinética de una única dosis de IgG-IL2 wt y qm dirigidos a FAP y sin diana

25 Se llevó a cabo un estudio farmacocinético (PK) de una sola dosis en ratones 129 inmunocompetentes libres de tumor para inmunoconjugados IgG-IL2 con diana en FAP que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple e inmunoconjugados IgG-IL2 sin diana que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple.

30 Los ratones Black 129 hembra (Harlan, Reino Unido), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento, se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimatasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud.

35 Los ratones recibieron inyecciones i.v. una vez con IgG-IL2 wt de 28H1 (2,5 mg/kg) con diana en FAP o IgG-IL2 qm de 28H1 (5 mg/kg) o IgG-IL2 wt DP47G2 sin diana (5 mg/kg) o IgG-IL2 qm DP47GS (5 mg/kg). Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200 µl de la solución apropiada. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario.

40 Se sangraron los ratones a las 1, 8, 24, 48, 72 y 96 horas y posteriormente cada 2 días durante 3 semanas. Se extrajeron los sueros y se almacenaron a -20°C hasta la realización de los análisis ELISA. Se determinaron las concentraciones de inmunoconjugados en suero utilizando una ELISA para la cuantificación del anticuerpo de inmunoconjugado de IL-2 (Roche-Penzberg). Se midió la absorbancia utilizando una longitud de onda de medición de 405 nm y una longitud de onda de referencia de 492 nm (lector de microplacas regulable VersaMax, Molecular Devices). La figura 41 muestra la farmacocinética de dichos inmunoconjugados de IL-2. Los constructos IgG-IL2 tanto con diana en FAP (A) como sin dianas (B) presentaban una vida media en suero más prolongada (aproximadamente 30 horas) que los constructos IgG-IL2 wt correspondientes (aproximadamente 15 horas).

TABLA 20

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	concentración (mg/ml)



IgG-IL2 wt de 28H1	2.5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,84 (=solución madre)
IgG-IL2 qm de 28H1	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	2,42 (=solución madre)
IgG-IL2 wt DP47GS	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,74 (=solución madre)
IgG-IL2 qm DP47GS	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,87 (=solución madre)

### Ejemplo 17

#### Farmacocinética de una única dosis de Fab-IL2 wt-Fab y Fab-IL2 qm-Fab no diana

5

Se llevó a cabo un estudio farmacocinético (PK) de una sola dosis en ratones 129 inmunocompetentes libres de tumores para inmunoconjugados Fab-IL2-Fab sin diana que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple.

10

Los ratones Black 129 hembra (Harlan, Reino Unido), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento, se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimatasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud.

15

Los ratones recibieron inyecciones i.v. una vez con Fab-IL2 wt-Fab DP47GS a una dosis de 65 nmoles/kg o Fab-IL2 qm-Fab DP47GS a una dosis de 65 nM/kg. Todos los ratones recibieron una inyección i.v. con 200 µl de la solución apropiada. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario.

20

25

Se sangraron los ratones a las 0,5, 1, 3, 8, 24, 48, 72 y 96 horas y posteriormente cada 2 días durante 3 semanas. Se extrajeron los sueros y se almacenaron a -20°C hasta la realización de los análisis ELISA. Se determinaron las concentraciones de inmunoconjugados en suero utilizando una ELISA para la cuantificación del anticuerpo de inmunoconjugado de IL-2 (Roche-Penzberg). Se midió la absorbancia utilizando una longitud de onda de medición de 405 nm y una longitud de onda de referencia de 492 nm (lector de microplacas regulable VersaMax, Molecular Devices).

30

La figura 42 muestra la farmacocinética de dichos inmunoconjugados de IL-2. Los constructos Fab-IL2-Fab wt y qm presentan una vida media en suero aproximada de 3 a 4 horas. La diferencia de vida media en suero entre constructos que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple es menos pronunciada para los constructos Fab-IL2-Fab que para los inmunoconjugados de tipo IgG, que de por sí presentan vidas medias más prolongadas.

TABLA 21

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	concentración (mg/ml)
Fab-IL2 wt-Fab DP47GS	65 nM/kg	Glicina 100 mM, NaCl 125 mM, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 25 nM pH 6,7	3,84 (=solución madre)
Fab-IL2 qm-Fab DP47GS	65 nM/kg	Glicina 100 mM, NaCl 125 mM, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 25 nM pH 6,7	2,42 (=solución madre)

### Ejemplo 18

#### Muerte celular inducida por activación de PBMC activadas por IL-2

40

Se preactivaron durante la noche con PHA-M en una concentración de 1 µg/ml en RPMI1640 con FCS al 10% y glutamina al 1%, PBMC recién aisladas procedentes de donantes sanos. Tras la preactivación, las PBMC se recolectaron, se marcaron con CFSE 40 nM en PBS y se sembraron en placas de 96 pocillos a razón de 100.000

células/pocillo. Las PBMC preactivadas se estimularon con diferentes concentraciones de inmunoconjugados de IL-2 (IgG-IL-2 wt de 4B9, IgG-IL-2 qm de 4B9, Fab-IL-2 wt de 4B9 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4B9). Tras seis días de tratamiento de IL-2, las PBMC fueron tratadas con 0,5 µg/ml de anticuerpo anti-Fas activador durante la noche. La proliferación de las células T CD4 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>) y CD8 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) se analizó tras seis días mediante dilución CFSE. El porcentaje de células T vivas tras el tratamiento anti-Fas se determinó mediante acotamiento en células vivas CD3<sup>+</sup> anexina-V-negativas.

Tal como se muestra en la figura 44, todos los constructos indujeron la proliferación de las células T preactivadas. A concentraciones bajas, los constructos que comprendían IL-2 de tipo salvaje eran más activos que los constructos que comprendían IL-2 qm. IgG-IL-2 wt, Fab-IL-2 wt-Fab y proleuquina presentaban una actividad similar. Fab-IL-2 qm-Fab era ligeramente menos activo que IgG-IL-2 qm. Los constructos que comprendían IL-2 de tipo salvaje eran más activos sobre las células T CD4 que sobre las células T CD8, muy probablemente debido a la activación de las células T reguladoras. Los constructos que comprendían la IL-2 mutante cuádruple eran similarmente activos sobre células T CD8 y CD4.

Tal como se muestra en la figura 45, las células T estimuladas con concentraciones elevadas de IL-2 de tipo salvaje son más sensibles a la apoptosis inducida por anti-Fas que las células T tratadas con IL-2 mutante cuádruple.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Roche Glycart AG

<120> Polipéptidos interleuquina-2 mutantes

<130> 27307

<150> EP 11153964.9

<151> 2011-02-10

<150> EP 11164237.7

<151> 2011-04-29

<160> 324

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys  
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile  
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 2  
 <211> 399  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> IL-2 humana de tipo salvaje

10

<400> 2

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acatttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgact 399

<210> 3  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2 humana de tipo salvaje (C125A)

ES 2 579 987 T3

<400> 3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 20 25 30  
 Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys  
 35 40 45  
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
 50 55 60  
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
 65 70 75 80  
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
 85 90 95  
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 100 105 110  
 Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
 115 120 125

5 Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 4

10 <211> 399

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> IL-2 humana de tipo salvaje (C125A) (1)

<400> 4

gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60  
 ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac cgggatgctg 120  
 accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180  
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agtccaagaa cttccacctg 240  
 aggctctggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300  
 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
 tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

20

<210> 5

<211> 399

ES 2 579 987 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
5 <223> IL-2 humana de tipo salvaje (C125A) (2)

<400> 5  
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
tggattacct ttgcccaaag catcatctca aactgact 399

10 <210> 6  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> IL-2 humana de tipo salvaje (C125A) (3)

<400> 6  
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60  
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180  
gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agagcaagaa cttccacctg 240  
aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300  
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
tggatcacct tcgcccagag catcatcagc acctgaca 399

20 <210> 7  
<211> 133  
<212> PRT  
25 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> IL-2 mutante L72G (C125A)

30 <400> 7

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys  
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

5 <210> 8  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> IL-2 mutante L72G (C125A) (1)

<400> 8  
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60  
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180  
gaggaaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240  
aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300  
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc acctgacc 399

15 <210> 9  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> IL-2 mutante L72G (C125A) (2)

ES 2 579 987 T3

<400> 9  
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcaactta 240  
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
tggattacct ttgcccagaag catcatctca aactgact 399

5 <210> 10  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> IL-2 mutante L72G (C125A) (3)

<400> 10  
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60  
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180  
gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240  
aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300  
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

15 <210> 11  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> IL-2 mutante L72G / F42A (C125A)

<400> 11

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys  
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr  
130

<210> 12  
<211> 399  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> IL-2 mutante F42A / L72G (C125A) (1)

<400> 12  
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60  
ctgcagatga tcctgaacg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180  
gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240  
aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300  
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc acctgacc 399

15 <210> 13  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> IL-2 mutante F42A / L72G (C125A) (2)



ES 2 579 987 T3

<400> 13  
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcaacta 240  
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
tggattacct ttgcccgaag catcatctca aactgact 399

5 <210> 14  
<211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> IL-2 mutante F42A / L72G (C125A) (3)

<400> 14  
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60  
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180  
gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240  
aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300  
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

15 <210> 15  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A)

<400> 15

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys  
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

5 <210> 16  
 <211> 399  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 16  
 gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60  
 ctgcagatga tcttgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
 accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180  
 gaggaactga agcctctgga agagtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240  
 aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300  
 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca togtggaatt tctgaaccgg 360  
 tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

15 <210> 17  
 <211> 399  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>

ES 2 579 987 T3

<223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

<400> 17

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct ttgcccagg catcatctca acactgact 399

5

<210> 18

<211> 399

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 18

gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60  
 ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac cggatgctg 120  
 accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180  
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240  
 aggccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggactgaa gggcagcgag 300  
 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
 tggatcacct tcgcccagag catcatcagc acctgaca 399

15

<210> 19

<211> 133

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> IL-2 cuádruple mutante T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A)

25

<400> 19

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 1                   5                   10                   15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 20                   25                   30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys  
 35                   40                   45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
 50                   55                   60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
 65                   70                   75                   80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
 85                   90                   95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 100                   105                   110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
 115                   120                   125

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 20  
 <211> 399  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> IL-2 cuádruple mutante T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 20  
 gtcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60  
 ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
 accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180  
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240  
 aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300  
 acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
 tggatcacct tcgccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 21  
 15 <211> 399  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> IL-2 cuádruple mutante T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

5 <400> 21  
 gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct ttgcccaaag catcatctca aactgact 399

<210> 22

<211> 399

10 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IL-2 cuádruple mutante T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

15 <400> 22  
 gctcctgcca gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60  
 ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120  
 accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180  
 gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240  
 aggccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300  
 acaaccttca tgtgagagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360  
 tggatcacct tcgcccagag catcatcagc acctgaca 399

<210> 23

20 <211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> 2B10; VL

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
 20 25 30

ES 2 579 987 T3

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

5 <210> 24  
<211> 321  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10; VL

<400> 24  
gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgagagtggt cgtcccatca 180  
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 25  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10(GS); VL

<400> 25  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 26  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2B10(GS); VL

<400> 26  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagatthttg ccacctatta ctgcttgag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 27  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10; VH

<400> 27  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 28

<211> 363

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10; VH

10 <400> 28

caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tctctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgttac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

<210> 29

<211> 108

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2F11; VL

20

<400> 29

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45



ES 2 579 987 T3

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 30  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2F11; VL

<400> 30  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

15 <210> 31  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2F11(VI); VL

<400> 31  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro  
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 32  
<211> 324  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> 2F11(VI); VL

<400> 32  
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcttgca gggccagtca gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactcccc cacgttcggc 300  
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 33  
15 <211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> 2F11; VH

<400> 33  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr



ES 2 579 987 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 36  
<211> 351  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2F11(MT); VH

<400> 36  
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300  
tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 37  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 3F2; VL

<400> 37  
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Tyr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

5 <210> 38  
<211> 324  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 3F2; VL

<400> 38  
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt atccagggga aagagccacc 60  
ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttoggc 300  
caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 39  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 3F2(YS); VL

<400> 39  
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
20 25 30  
  
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45  
  
Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60  
  
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 40  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3F2(YS); VL

<400> 40  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 41  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 3F2; VH

<400> 41  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

ES 2 579 987 T3

85

90

95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 42  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3F2; VH

<400> 42  
 gaggtgcaat tgttgagatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 43  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 3D9, VL

<400> 43  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 44  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3D9, VL

<400> 44  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcaagtga ttactgtcag cagggtcagc ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 45  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 3D9, VH

<400> 45  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95



ES 2 579 987 T3

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 46  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3D9, VH

<400> 46  
 gaggtgcaat tgttgagatc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt cgcagact 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgta gtactggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttg 300  
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 47  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 3D9(TA); VH

<400> 47  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

ES 2 579 987 T3

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 48  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3D9(TA); VH

<400> 48  
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt cgcagcaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300  
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 49  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 4G8; VL

<400> 49  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro

ES 2 579 987 T3

85

90

95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

5 <210> 50  
<211> 324  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 4G8; VL

<400> 50  
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180  
gacaggttca gtggcagtg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc 300  
caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 51  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 4G8; VH

<400> 51  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

ES 2 579 987 T3

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 52  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 4G8; VH

<400> 52  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt caccttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 53  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 4B3; VL

<400> 53  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Tyr Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

25

ES 2 579 987 T3

<210> 54  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 4B3; VL

<400> 54  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

10

<210> 55  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 4B3; VH

20

<400> 55  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

25

<210> 56  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> 4B3; VH

<400> 56

```

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggtgg      300
5 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t      351
    
```

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4D6; VL

15 <400> 57

```

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1           5           10           15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
           20           25           30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
           35           40           45

Ile Gln Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50           55           60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65           70           75           80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
           85           90           95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100           105
    
```

20 <210> 58

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> 4D6; VL

<400> 58



ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggtgg 300  
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 61  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2C6; VL

<400> 61

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Gln	Ile	Pro
				85					90					95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 62  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2C6; VL

<400> 62



ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

5 <210> 63  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2C6; VH

<400> 63  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

15 <210> 64  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2C6; VH

ES 2 579 987 T3

<400> 64  
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatc cacctttagc agttatgcca tgagctgggt cggccaggct 120  
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggga gtgctggtta tacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttg 300  
tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

5 <210> 65  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 5H5; VL

<400> 65  
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
20 25 30  
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45  
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60  
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80  
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro  
85 90 95  
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

15 <210> 66  
<211> 324  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 5H5; VL

<400> 66

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattcccc tacgttcggt 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 67  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 5H5; VH

<400> 67

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
Thr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Gly	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	50	55	60	
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	65	70	75	80
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	85	90	95	
Lys	Gly	Trp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser	115															

<210> 68  
 <211> 348  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 5H5; VH

<400> 68

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccgatt cacctttagc agttatacca tgagctgggt ccgccggtct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggtg gtggtaggac atactacgca 180  
 gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240  
 cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggttggttt 300  
 acgccttttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 69  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 2C4; VL

10

<400> 69  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 70  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 2C4; VL

20

<400> 70

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agtaactact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcctcca ttagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattcccc tacgttcggt 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 71  
 <211> 117  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2C4; VH

10

<400> 71  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 72  
 15 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 2C4; VH

<400> 72

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300  
 tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 73

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2D9; VL

10

<400> 73

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	1	5	10	15
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser	20	25	30	
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	35	40	45	
Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	50	55	60	
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	65	70	75	80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Gln	Ile	Pro	85	90	95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	100	105						

<210> 74

15 <211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> 2D9; VL

<400> 74

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatocca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattcccc tacgttcggg 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 75  
 <211> 117  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2D9; VH

10 <400> 75

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100	105	110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser	115														

<210> 76  
 15 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 2D9; VH

<400> 76

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt cggccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtgggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccggtat attactgtgc gaaaggttgg 300  
 tttagcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 77  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 4B8; VL

10

<400> 77

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Val	Ile	Pro
				85					90					95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 78  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 4B8; VL

20

<400> 78



ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctgta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatcca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcacatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaat caaa 324

<210> 79  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B8; VH

<400> 79

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1		5		10		15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20		25		30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35		40		45		
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50		55		60		
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	65		70		75		80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85		90		95		
Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100		105		110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser												115						

<210> 80  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B8; VH

<400> 80

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccgatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 81  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 7A1; VL

<400> 81  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 82  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 7A1; VL

<400> 82

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagc agattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 83  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 7A1; VH

10

<400> 83  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 84  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 7A1; VH

20

<400> 84

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300  
 tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

5 <210> 85  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 13C2; VL

<400> 85  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

15 <210> 86  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 13C2; VL

<400> 86  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ES 2 579 987 T3

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 87  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 13C2; VH

<400> 87  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 88  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 13C2; VH

<400> 88  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

ES 2 579 987 T3

tctctgtcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt cgcagcagct 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtagtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttg 300  
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

5 <210> 89  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 13E8; VL

<400> 89  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro  
 85 90 95  
 Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

15 <210> 90  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 13E8; VL

<400> 90  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctgta ccagcagaaa 120

ES 2 579 987 T3

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gagaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggctctga atattccctc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 91  
 <211> 117  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 13E8; VH

10

<400> 91  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 92  
 15 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 13E8; VH

<400> 92  
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ES 2 579 987 T3

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttg 300  
 ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

5 <210> 93  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 14C10; VL

<400> 93  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ile Ile Pro  
 85 90 95  
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

15 <210> 94  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 14C10; VL

<400> 94  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggtcata ttattcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324



ES 2 579 987 T3

<210> 95  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 14C10; VH

10 <400> 95

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Lys	Ala	Trp	Met	Gly	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100	105	110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser	115														

<210> 96  
 <211> 351  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 14C10; VH

20

<400> 96  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggagc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt cgcaggct 120  
 ccaggaagg ggcctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcttgg 300  
 atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

25 <210> 97  
 <211> 108



ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 100  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 17A11; VH

<400> 100  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttg 300  
 ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 101  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 19G1; VL  
 <400> 101

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 102  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 19G1; VL

<400> 102  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaat caaa 324

15 <210> 103  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 19G1; VH

<400> 103

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 104  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 19G1; VH

<400> 104  
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtggtggtct cacatactac 180  
 gcagactcog tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 105  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 20G8; VL

<400> 105

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 106  
 <211> 324  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 20G8; VL

10 <400> 106  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatocca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 107  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 20G8; VH

<400> 107

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 108  
 <211> 351  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 20G8; VH

10 <400> 108  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcaa tgagctgggt cgcaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggga gtggtagtcg tacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 109  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 4B9; VL

<400> 109

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 110  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 4B9; VL

<400> 110  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggggatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 111  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 4B9; VH

<400> 111



ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 112  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 4B9; VH

<400> 112  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt caccttagc agttatgcta tgagctgggt cgccaggct 120  
 ccaggaagg ggcaggagt ggtctcagct attattgta gtggtgctag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtag 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca cgtctcgtc c 351

15 <210> 113  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 5B8; VL

<400> 113

ES 2 579 987 T3

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Thr	Ser	Ser
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Asn	Val	Gly	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro
				85					90					95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 114  
 <211> 324  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 5B8; VL

10 <400> 114  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatcca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 115  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 5B8; VH

<400> 115

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Trp Gly Gly Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 116  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 5B8; VH

<400> 116  
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct atttggggtg gtggtcgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 tttggtgggt ttaactactg gggccaagga accctgtgca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 117  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 5F1; VL

<400> 117

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 118  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 5F1; VL

<400> 118  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 119  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 5F1; VH

<400> 119

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 120  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 5F1; VH

<400> 120  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccgatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt cgcaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attattagta gtgggctag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggcog gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg ggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 121  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 14B3; VL

<400> 121

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 122  
 <211> 324  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 14B3; VL

10 <400> 122  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggtta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 123  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 14B3; VH

<400> 123

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 124  
<211> 351  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 14B3; VH

<400> 124  
gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccgatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attttgcta gtggtcgcgac cacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 125  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 16F1; VL

<400> 125

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 126  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 16F1; VL

<400> 126  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 127  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 16F1; VH

<400> 127



ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 128  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 16F1; VH

<400> 128  
 gaggtgcaat tgttgaggc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcaggt attattggta gtggtggtat cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cgcgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 129  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 16F8; VL

<400> 129

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 130  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 16F8; VL

<400> 130  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagggattta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 131  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 16F8; VH

<400> 131

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

ES 2 579 987 T3

1		5		10		15									
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Leu	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser											
			115												

<210> 132  
 <211> 351  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 16F8; VH

10 <400> 132  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggtg gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351 <210> 133

<211> 108  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> O3C9; VL

20 <400> 133

ES 2 579 987 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 134  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> O3C9; VL

<400> 134  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaat caaa 324

15 <210> 135  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> O3C9; VH

<400> 135  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

ES 2 579 987 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 136  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> O3C9; VH

<400> 136  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttttgccca tgagctgggt ccgtcagtct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtaa cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

15 <210> 137  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> O2D7; VL

<400> 137  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

ES 2 579 987 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 138  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> O2D7; VL

<400> 138  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcacccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggctatta tgcttcctcc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 139  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> O2D7; VH

<400> 139  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

ES 2 579 987 T3

20

25

30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 140  
<211> 351  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> O2D7; VH

<400> 140  
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt cgcagggt 120  
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgta gtggtgtag cacatactac 180  
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca cagtctcgtc c 351

15 <210> 141  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 28H1; VL

<400> 141  
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

ES 2 579 987 T3

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 142  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 28H1; VL

<400> 142  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 143  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 28H1; VH

<400> 143  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His  
 20 25 30



ES 2 579 987 T3

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 144  
 <211> 348  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 28H1; VH

<400> 144  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccgatt caccttagc agtcatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct atttgggcta gtggggagca atactacgca 180  
 gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240  
 cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcaa aggggtggctg 300  
 ggtaattttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

15 <210> 145  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 22A3; VL

<400> 145  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

ES 2 579 987 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 146  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 22A3; VL

<400> 146  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag caggggatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 147  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 22A3; VH

<400> 147  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

ES 2 579 987 T3

	35		40		45														
	Ser	Ala	Ile	Ile	Gly	Ser	Gly	Ser	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
	50					55						60							
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr			
	65					70					75					80			
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85						90					95				
	Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu			
				100					105					110					
	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
				115															

5 <210> 148  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 22A3; VH

<400> 148  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attattggta gtgtagtat cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 149  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 29B11; VL

<400> 149  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

ES 2 579 987 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 150  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 29B11; VL

<400> 150  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttaactgtcag caggggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 151  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 29B11; VH

<400> 151  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

ES 2 579 987 T3

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 152  
 <211> 351  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 29B11; VH

<400> 152  
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt cgcaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattgcta gtgggtggtat cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 153  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 23C10; VL

<400> 153  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

ES 2 579 987 T3

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 154  
 <211> 324  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 23C10; VL

10 <400> 154  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

15 <210> 155  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> 23C10; VH

<400> 155  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Thr Asn Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

ES 2 579 987 T3

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 156  
<211> 351  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> 23C10; VH

10

<400> 156  
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttctgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

15 <210> 157  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_C3B6; VL

<400> 157  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 158  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2B10\_C3B6; VL

<400> 158  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 159  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10\_C3B6; VH

<400> 159  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60



ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 160  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_C3B6; VH

<400> 160  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 161  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_6A12; VL

<400> 161  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 162  
 <211> 321  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2B10\_6A12; VL

10 <400> 162  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 163  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10\_6A12; VH

<400> 163  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 164  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_6A12; VH

<400> 164  
cagggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 165  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_C3A6; VL

<400> 165  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val  
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 166  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2B10\_C3A6; VL

<400> 166  
 gacatccaga tgaccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat tcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcggtgatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgca g aatggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 167  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10\_C3A6; VH

<400> 167  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 168  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_C3A6; VH

<400> 168  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatccta tctttggtac agcaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacgggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 169  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_wt; VL

<400> 169  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

5 <210> 170  
<211> 321  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_wt; VL

<400> 170  
gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cggggtcacc 60  
atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180  
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
gaagattttg ccacctatta ctgcttgacag aatggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 171  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_wt; VH

<400> 171  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 172  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_wt; VH

<400> 172  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 173  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_VD; VL

<400> 173  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 174  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2B10\_D1A2\_VD; VL

<400> 174  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgacg aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 175  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10\_D1A2\_VD; VH

<400> 175  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60



ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 176  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_D1A2\_VD; VH

<400> 176  
cagggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgttac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacgggtc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 177  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_O7D8; VL

<400> 177  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Val  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 178  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 2B10\_O7D8; VL

10

<400> 178  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtc gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 179  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 2B10\_O7D8; VH

20

<400> 179  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 180  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_O7D8; VH

<400> 180  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgttac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 181  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_O1F7; VL

<400> 181  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

5 <210> 182  
<211> 321  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_O1F7; VL

<400> 182  
gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cggggtcacc 60  
atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
gaagattttg ccacctatta ctgcctgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300  
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 183  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2B10\_O1F7; VH

<400> 183  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 184  
<211> 363  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> 2B10\_O1F7; VH

<400> 184  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcttgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatccta tctttggtac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacgggtc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

<210> 185  
15 <211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> 2B10\_6H10; VL

<400> 185  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val  
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Gln Ala Ala Thr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 186  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 2B10\_6H10; VL

<400> 186  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cggggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatccaggct gctaccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgtag aatggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

15 <210> 187  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 2B10\_6H10; VH

<400> 187  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 579 987 T3

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 188  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2B10\_6H10; VH

<400> 188  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tca 363

15 <210> 189  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> MHLG1; VH

<400> 189  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30  
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala  
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 190  
<211> 366  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> MHLG1; VH

<400> 190  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttgggtcaagc ctggcgggctc cctgcggctc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacathtagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120  
cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180  
tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240  
ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatcagc cctgttatta ctgtaccaca 300  
tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360  
tccagt 366

15 <210> 191  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> KV9; VL

<400> 191  
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
20 25 30  
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu Ile



ES 2 579 987 T3

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 192  
<211> 327  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> KV9; VL

10

<400> 192  
gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60  
atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120  
gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180  
aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

15

<210> 193  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> MHLG; VH

<400> 193  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala  
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 194  
<211> 366  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> MHLG; VH

10  
<400> 194  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttgggtccagc ctggcgggctc cctgcggctc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120  
cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180  
tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240  
ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300  
tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgctc 360  
tccagt 366

15 <210> 195  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> KV1; VL

<400> 195  
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

ES 2 579 987 T3

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 196  
<211> 330  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> KV1; VL

10

<400> 196  
gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtggcgca ccgggtcacc 60  
atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120  
gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180  
aggttcagcg cgagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 197  
15 <211> 109  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> KV7; VL

<400> 197  
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
100 105

<210> 198  
<211> 330  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> KV7; VL

10 <400> 198  
gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtggcgga ccgggtcacc 60  
atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120  
gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180  
aggttcagcg gcagtgatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

15 <210> 199  
<211> 603  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 199  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe  
20 25 30  
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

ES 2 579 987 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
  
 Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly  
 210 215 220  
  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser  
 225 230 235 240  
  
 Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu  
 245 250 255  
  
 Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr  
 260 265 270  
  
 Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu  
 275 280 285  
  
 Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val  
 290 295 300  
  
 Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu  
 305 310 315 320

ES 2 579 987 T3

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr  
 325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe  
 340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu  
 370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
 385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ser  
 405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser  
 420 425 430

Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 435 440 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 465 470 475 480

Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

ES 2 579 987 T3

565

570

575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
595 600

<210> 200  
<211> 1809  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> L19 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 200  
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agtttttcga tgagctgggt cgcaggct 120  
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcatct atttccgta gttcgggtac cacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccgttt 300  
ccgtattttg actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag 360  
ggcccatcgg tcttcccctc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420  
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgtg gaactcaggc 480  
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660  
tccggcggag gagggagcgg cggagggtggc tccggagggtg gcggagcacc tgcctcaagt 720  
tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780  
aatggaatta ataattacaa gaatcccaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840  
atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900  
ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960  
atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020  
gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080  
caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggat cggcggagg tggctctggc 1140  
ggtggcggag aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtagacc tgggggggtcc 1200  
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttagca gtttttcgat gagctgggtc 1260  
cgccaggctc cagggaagg gctggagtgg gtctcatcta tttccggtag ttcgggtacc 1320

ES 2 579 987 T3

acatactacg cagactccgt gaagggcccg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380  
 acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440  
 aaaccgtttc cgtatthtga ctactggggc caggggaacc tggtcaccgt ctcgagtgct 1500  
 agcaccaagc gcccatcggc cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560  
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620  
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 1680  
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttggggcac ccagacctac 1740  
 atctgcaacg tgaatcacia gccccagcaac accaagggtg ataagaaagt tgagcccaaa 1800  
 tcttgtgac 1809

<210> 201  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> cadena ligera de L19

10

<400> 201

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Thr	Gly	Arg	Ile	Pro
				85					90					95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
			100					105					110		
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
		115					120					125			
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu



ES 2 579 987 T3

130

135

140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 202  
<211> 645  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cadena ligera de L19

10

<400> 202  
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tatgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagacgggtc gtattcctcc gacgttcggc 300  
caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtott catcttcccg 360  
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 480  
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540  
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600  
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 203  
15 <211> 641  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

<400> 203

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 115 120 125  
 Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr  
 145 150 155 160  
 Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val  
 165 170 175  
 Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 180 185 190  
 Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln  
 195 200 205  
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met  
 210 215 220  
 Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Pro

ES 2 579 987 T3

				245					250					255			
Ala	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu		
			260					265					270				
Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro		
		275					280					285					
Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala		
	290					295					300						
Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu		
305					310					315					320		
Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro		
				325					330					335			
Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly		
			340					345						350			
Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile		
		355					360					365					
Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser		
	370					375					380						
Thr	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly		
385					390						395				400		
Gly	Gly	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Gln	Asp	Pro	Ala	Val	Ser	Val	Ala	Leu		
				405					410					415			
Gly	Gln	Thr	Val	Arg	Ile	Thr	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr		
			420					425					430				
Tyr	Ala	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val		
		435					440					445					
Ile	Tyr	Gly	Lys	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser		
	450					455					460						
Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln		
465					470					475					480		
Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Asn	Ser	Ser	Val	Tyr	Thr	Met		
				485					490					495			

ES 2 579 987 T3

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser  
 500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Glu Val  
 515 520 525

Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 530 535 540

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met  
 545 550 555 560

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala  
 565 570 575

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 580 585 590

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
 595 600 605

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys  
 610 615 620

Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
 625 630 635 640

Ser

<210> 204  
 <211> 1923  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

10 <400> 204  
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcac 300  
 aatgcttttg actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tgtcgagagg tggaggcggt 360  
 tcaggcggag gtggctctgg cgggtggcggg tcgtctgagc tgactcagga ccctgctgtg 420

ES 2 579 987 T3

tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc acatgccaaag gagacagcct cagaagctat 480  
 tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa 540  
 aacaaccggc cctcagggat cccagaccga ttctctggct ccagctcagg aaacacagct 600  
 tccttgacca tcaactggggc tcaggcggaa gatgaggctg actattactg taactcctct 660  
 gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc ggagggacca agctgaccgt cctaggctct 720  
 tcctcatcgg gtagtagctc ttccggctca tcgtcctccg gagcaactgc ctcaagttct 780  
 acaaagaaaa cacagctaca actggagcat ttactgctgg atttacagat gattttgaat 840  
 ggaattaata attacaagaa tcccaaactc accaggatgc tcacagcaa gtttgccatg 900  
 cccaagaagg ccacagaact gaaacatctt cagtgtctag aagaagaact caaacctctg 960  
 gaggaagtgc taaatggcgc tcaaagcaaa aactttcact taagaccag ggacttaatc 1020  
 agcaatatca acgtaatagt tctggaacta aagggatctg aaacaacatt catgtgtgaa 1080  
 tatgctgatg agacagcaac cattgtagaa tttctgaaca gatggattac ctttgcccaa 1140  
 agcatcatct caacactgac ttccggcgga ggagggagcg gcggaggtgg ctctggcggt 1200  
 ggcggtatcgt ctgagctcac tcaggaccct gctgtgtctg tggccttggg acagacagtc 1260  
 aggatcacat gccaaaggaga cagcctcaga agctattatg caagctggta ccagcagaag 1320  
 ccaggacagg cccctgtact tgtcatctat ggtaaaaaca accggccctc agggatocca 1380  
 gaccgattct ctggctccag ctcaggaaac acagcttctt tgaccatcac tggggctcag 1440  
 gcggaagatg aggctgacta ttactgtaac tcctctgttt atactatgcc gcccggtgta 1500  
 ttccggcgag ggaccaagct taccgtacta ggctcaggag gcggttcagg cggaggttct 1560  
 ggccggcgta gcggatcggg ggtgcagctg ttggagtctg ggggaggctt ggtacagcct 1620  
 ggggggtccc tgagactctc ctgtgcagcc tctggattca cctttagccg gtatggtagt 1680  
 agctgggtcc gccaggctcc agggaagggg ctggagtggg tctcagctat tagtggtagt 1740  
 ggtggtagca catactacgc agactccgtg aagggccggg tcaccatctc cagagacaat 1800  
 tccaagaaca cgctgtatct gcaaatgaac agcctgagag ccgaggacac ggccgtatat 1860  
 tactgtgca aagcgcataa tgcttttgac tactggggcc agggaaccct ggtcacctg 1920  
 tcg 1923

<210> 205  
 <211> 603  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> F16 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10

<400> 205

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Ser Ser Ser  
 210 215 220  
 Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro Ala Ser Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu  
 245 250 255

ES 2 579 987 T3

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr  
 260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu  
 275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val  
 290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu  
 305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr  
 325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe  
 340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu  
 370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
 385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly  
 405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser  
 420 425 430

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 435 440 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 465 470 475 480

Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 500 505 510

ES 2 579 987 T3

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600

5 <210> 206  
 <211> 1809  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> F16 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 206  
 gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggatggta tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggtgagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgc 300  
 aatgcttttg actactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tgtcgagtgc tagcaccaag 360  
 ggcccatcgg tcttcccctc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420  
 ctgggctgcc tggcaagga ctacttcccc gaaccgggta cgggtgcgtg gaactcaggc 480  
 gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540  
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600  
 gtgaatcaca agcccagcaa caccaagtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660  
 tcttctcat cgggtagtag ctcttccggc tcatcgtcct ccggagcacc tgcctcaagt 720  
 tctaaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780  
 aatggaatta ataattaca gaatcccaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840



ES 2 579 987 T3

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900  
 ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960  
 atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020  
 gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080  
 caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggga gcggcggagg tggctctggc 1140  
 ggtggcggag aggtgcaatt gttggagtct gggggaggct tggtagacc tggggggctc 1200  
 ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttagacc ggtatggtat gagctgggtc 1260  
 cgccaggctc caggaagg gctggagtgg gtctcagcta ttagtggttag tgggtgtagc 1320  
 acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380  
 acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440  
 aaagcgcata atgcttttga ctactggggc caggaaccc tggtcaccgt gtcgagtgct 1500  
 agcaccaagg gcccatcggc cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560  
 acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620  
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 1680  
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740  
 atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 1800  
 tcttgtgac 1809

<210> 207  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> F16 cadena ligera

<400> 207

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala  
 20 25 30  
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr  
 35 40 45  
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu  
 65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met Pro Pro  
 85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys  
 100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln  
 115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly  
 130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly  
 145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala  
 165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser  
 180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val  
 195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210

<210> 208  
 <211> 642  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de F16

10 <400> 208  
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60  
 acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120  
 caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180  
 ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcaactggggc tcaggcggaa 240  
 gatgaggctg actattactg taactcctct gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggtcaa cccaaggctg ccccagcgt gaccctgttc 360  
 cccccagca gcgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tggctctgcct gatcagcgac 420  
 ttctaccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 480  
 gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 540  
 agcctgacct cagagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccagggt gaccacagag 600  
 ggagcaccg tggagaaaac cgtggcccc accgagtgca gc 642

ES 2 579 987 T3

<210> 209  
 <211> 605  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 3F2-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 209

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120						125		
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	130					135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
			180					185					190		

ES 2 579 987 T3

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270  
 Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285  
 Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300  
 Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315  
 Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335  
 Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350  
 Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365  
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

ES 2 579 987 T3

435	440	445																			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr						
450						455					460										
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys						
465					470					475					480						
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu						
				485					490					495							
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu						
			500					505					510								
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys						
		515					520					525									
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser						
530						535					540										
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser						
545					550					555					560						
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser						
				565					570					575							
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn						
			580					585					590								
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp									
		595					600					605									

<210> 210  
 <211> 1815  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 3F2-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 210  
 gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtg gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggtgg 300  
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

ES 2 579 987 T3

aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
 gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480  
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
 tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
 gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720  
 agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780  
 ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840  
 gccatgcccc agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900  
 cctctggagg aagtgctaaa tggcgtcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960  
 ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020  
 tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080  
 gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggggg aggtggtctc 1140  
 ggcggtggcg gagagtgca attggtggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200  
 tcctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcacctta gcagttatgc catgagctgg 1260  
 gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320  
 agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380  
 aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggcctg atattactgt 1440  
 gcgaaagggg ggtttggtgg ttttaactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500  
 agtgctagca ccaagggcc atcgtgtctc cccctggcac cctcctcaa gagcacctct 1560  
 gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620  
 tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccgtgtgt cctacagtcc 1680  
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtgataa gaaagttgag 1800  
 cccaaatctt gtgac 1815

<210> 211

<211> 605

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Fab de 4G8-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 211

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

ES 2 579 987 T3

1				5						10					15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	130					135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
			180					185					190		
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
		195					200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Ser	Gly	Gly
	210					215					220				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser
225					230					235					240
Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp
				245					250						255

ES 2 579 987 T3

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510



ES 2 579 987 T3

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 212  
 <211> 1815  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Fab de 4G8-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10

<400> 212  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccgatt caccttagc agttatgcc tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggcca ccgtctcgag tgctagcacc 360  
 aagggcccat cggctctccc cctggcacc tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
 gccctgggct gcctgtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcacccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
 gactccggcg gaggaggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720  
 agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780  
 ttgaatgaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840  
 gccatgccca agaagggcac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

ES 2 579 987 T3

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960  
 ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020  
 tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080  
 gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140  
 ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttgggtaca gcctgggggg 1200  
 tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260  
 gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320  
 agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380  
 aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440  
 gcgaaagggg ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500  
 agtgctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcac cctcctcaa gagcacctct 1560  
 gggggcacag cggccttggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620  
 tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680  
 tcaggactct actcctcag cagcgtggtg accgtgcctt ccagcagctt gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800  
 cccaaatctt gtgac 1815

<210> 213  
 <211> 605  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 3D9 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10

<400> 213  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270  
 Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285  
 Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300  
 Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320  
 Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

ES 2 579 987 T3

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350  
 Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365  
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430  
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480  
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

ES 2 579 987 T3

580

585

590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
595 600 605

<210> 214  
<211> 1815  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Fab de 3D9-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 214  
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120  
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgta gtactggtag cacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300  
ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360  
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacacctc cgggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
gactccggcg gaggaggag cggcggaggg ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720  
agttctacaa agaaaacaca gttacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780  
ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840  
gccatgcccaga aagaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900  
cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960  
ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020  
tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080  
gcccaggca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140  
ggcgggtggcg gagaggtgca attggtggag tctgggggag gcttgggtaca gcctgggggg 1200  
tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc tatgagctgg 1260  
gtccgccaga ctccaggaa ggggctggag tgggtctcag ctattggtgt tagtactggt 1320  
agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380  
aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

ES 2 579 987 T3

gcgaaagggtt ggctgggtcc ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500  
 agtgctagca ccaagggccc atcgggtcttc ccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560  
 gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620  
 tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680  
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800  
 cccaaatctt gtgac 1815

<210> 215  
 <211> 605  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 2F11-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 215

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser



ES 2 579 987 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 216  
 <211> 1815  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 2F11-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 216  
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60



ES 2 579 987 T3

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300  
 tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360  
 aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
 gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480  
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
 tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
 gactccggcg gaggaggag cggcggagggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720  
 agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780  
 ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactacca ggatgctcac agccaagttt 840  
 gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900  
 cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccaggac 960  
 ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020  
 tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080  
 gccaaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140  
 ggcggtggcg gagaggtgca attggtggag tctgggggag gcttggta ca gcctgggggg 1200  
 tcctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcacctta gcagttatgc catgagctgg 1260  
 gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320  
 agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380  
 aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acaccgccgt atattactgt 1440  
 gcgaaatgga gatggatgat gtttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500  
 agtgctagca ccaagggccc atcggctctc ccctggcac cctcctcaa gagcacctct 1560  
 gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620  
 tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680  
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800  
 cccaaatctt gtgac 1815

<210> 217  
 <211> 605  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> Fab de 4B3-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 217

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220

ES 2 579 987 T3

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

ES 2 579 987 T3

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 218  
 <211> 1815  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 4B3-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 218  
 gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt cgcagaggt 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300  
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360  
 aagggcccat cggctttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
 ggcgcccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggactctac 540  
 tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

ES 2 579 987 T3

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720  
agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780  
ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840  
gccatgccc aagaagccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900  
cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960  
ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020  
tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080  
gccccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140  
ggcgggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttgggtaca gcctgggggg 1200  
tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcacctta gcagttatgc catgagctgg 1260  
gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320  
agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380  
aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440  
gcgaaagggg ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500  
agtgctagca ccaagggccc atcggctctc cccctggcac cctcctcaa gagcacctct 1560  
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620  
tcgtggaact caggcgcct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680  
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 1740  
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800  
cccaatctt gtgac 1815

<210> 219  
<211> 603  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Fab de 28H1-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 219  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His  
20 25 30  
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

ES 2 579 987 T3

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly  
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser  
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu  
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr  
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu  
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val

ES 2 579 987 T3

```

                290                      295                      300
Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305                                     310                             315                                     320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
                                         325                               330                                         335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
                                      340                               345                                     350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
                                     355                             360                                     365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370                                     375                                     380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385                                     390                                     395                                     400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
                                     405                               410                                     415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
                                     420                               425                                     430

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435                                     440                                     445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
450                                     455                                     460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
465                                     470                                     475                                     480

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                                     485                               490                                     495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500                                     505                                     510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515                                     520                                     525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530                                     535                                     540

```

ES 2 579 987 T3

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
595 600

<210> 220  
<211> 1809  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Fab de 28H1-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 220  
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60  
tctctgcgcc cctccggett caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120  
cctggcaaa gctggaatg ggtgtccgcc atctggcct ccggcgagca gtactacgcc 180  
gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240  
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgcaa gggctggctg 300  
ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360  
ggaccctccg tgttccccct ggccccctcc agcaagtcta cctctggcgg caccgcccgt 420  
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 480  
gccctgacca gcggcgtcca caccttcca gccgtgtgc agtcctccgg cctgtactcc 540  
ctgtcctccg tctgtaccgt gccctccagc tctctgggca cccagaceta catctgcaac 600  
gtgaaccaca agccctccaa caccaagggt gacaagaagg tggaaaccaa gtctctgcgac 660  
agtgggtggg gaggatctgg tggcggagg tctggcggag gtggcgctcc tgccctctcc 720  
agcaccaaga aaaccagct ccagctggaa catctcctgc tggatctgca gatgatcctg 780  
aacggcatca acaactacaa gaacccaag ctgaccgga tgcctgaccg caagttcgcc 840  
atgccaaga aggccaccga gctgaaacat ctgcagtgcc tggaaagga actgaagcct 900  
ctggaagagg tgctgaacgg cgcccagtcc aagaacttcc acctgaggcc tcgggacctg 960  
atctccaaca tcaacgtgat cgtgctggaa ctgaagggt ccgagacaac cttcatgtgc 1020  
gagtacgccg acgagacagc taccatcgtg gaatttctga accggtggat caccttcgcc 1080  
cagtccatca tctccaccct gacctccggt ggtggcggat ccgggggagg gggttctggc 1140



ES 2 579 987 T3

```

ggaggcggag aagtgcagct gctggaatcc ggcggaggcc tgggtgcagcc tggcggatct      1200
ctgagactgt cctgcgccgc ctccggcttc accttctcct cccacgccat gtccctgggtc      1260
cgacaggctc caggcaaggg cctggaatgg gtgtccgccca tctgggcctc cggcgagcag      1320
tactacgccg actctgtgaa gggccgggttc accatctccc gggacaactc caagaacacc      1380
ctgtacctgc agatgaactc cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ctgtgccaag      1440
ggctggctgg gcaacttcga ctactggggc cagggcaccc tgggtcaccgt gtccctccgcc      1500
tctaccaagg gccctccgt gttccctctg gccccctcca gcaagtctac ctctggcggc      1560
accgccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg      1620
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gtccctccgcc      1680
ctgtactccc tgtcctccgt cgtgaccgtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac      1740
atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaggtgg acaagaaggt ggaacccaag      1800
tcctgcgac                                     1809

```

5 <210> 221  
 <211> 605  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Fab de 29B11-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 221

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Ile	Gly	Ser	Gly	Gly	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		

ES 2 579 987 T3

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365

ES 2 579 987 T3

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 222  
 <211> 1815  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>

ES 2 579 987 T3

<223> Fab de 29B11-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 222

```

gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg      60
tctctgcgccg cctccggcctt caccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt ccgacaggct      120
cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ccggcggcat cacctactac      180
gccgactctg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac      240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc caagggtg      300
ttcggaggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca ccgtgtccag cgctagcacc      360
aaggaccct ccgtgttccc cctggcccc tccagcaagt ctacctctgg cggcaccgcc      420
gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct      480
ggcgccctga ccagcggcgt ccacacctt ccagccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac      540
tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc      600
aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagtcctgc      660
gacagtggtg ggggaggatc tgggtggcga ggttctggcg gagtgggcg tcctgcctcc      720
tccagcacca agaaaacca gctccagctg gaacatctcc tgctggatct gcagatgatc      780
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgacct ggatgctgac cgccaagttc      840
gccatgcca agaaggccac cgagctgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag      900
cctctggaag aggtgctgaa cggcggcccag tccaagaact tccacctgag gcctcgggac      960
ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gctccgagac aaccttcatg     1020
tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc     1080
gccagtcca tcatctccac cctgacctcc ggtggtggcg gatccggggg agggggttct     1140
ggcggaggcg gagaagtgca gctgctggaa tccggcggag gcctggtgca gcctggcggg     1200
tctctgagac tgtcctgcmc cgctccggc ttcaccttct cctcctatgc catgtcctgg     1260
gtccgacagg ctccaggcaa gggcctggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctccggcggc     1320
atcacctact acgcccactc tgtgaagggc cggttcacca tctcccggga caactccaag     1380
aacaccctgt acctgcagat gaactccctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgt     1440
gccaagggct ggttcggagg cttcaactac tggggccagg gcaccctggt caccgtgtcc     1500
tccgcctcta ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cctccagcaa gtctacctct     1560
ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tcccagacc cgtgaccgtg     1620
tcctggaact ctggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagtcc     1680

```

5

<210> 223

<211> 605

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

ES 2 579 987 T3

<223> Fab de 19G1-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 223

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

ES 2 579 987 T3

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

ES 2 579 987 T3

	435		440		445														
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
	450					455					460								
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
	465				470					475					480				
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu				
				485					490					495					
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu				
			500					505					510						
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys				
		515					520					525							
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser				
	530					535					540								
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser				
	545				550					555					560				
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser				
				565					570					575					
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn				
			580					585					590						
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp							
		595					600					605							

<210> 224  
 <211> 1815  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 19G1-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 224  
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60  
 tcttgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120  
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcagct ctggcggcct gacctactac 180  
 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300  
 ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgccag cgctagcacc 360

ES 2 579 987 T3

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420  
gcccctgggct gcctgggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480  
ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgacagagcag cggcctgtac 540  
agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660  
gactccggcg gaggcggatc tggcgggtga ggctccggag gcggaggcgc tctgccagc 720  
agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgac 780  
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840  
gccatgcccc agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900  
cctctggaag agtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960  
ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020  
tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080  
gccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140  
ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcga agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200  
agcctgagac tgtcttgccg cgcacagcggc ttcacctca gcagctacgc catgagctgg 1260  
gtccgccagg ccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcag ctctggcggc 1320  
ctgacctact acgcccagc cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380  
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440  
gccaagggat ggttggcggc cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500  
agcggcagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560  
ggcggaacag ccgccctggc ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620  
tcttgaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680  
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740  
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtgaa 1800  
ccaagagct gcgac 1815

<210> 225

<211> 605

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fab de 20G8-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 225

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly



# ES 2 579 987 T3

```

1             5             10             15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20           25           30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35           40           45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50           55           60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
      65           70           75           80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
      100          105          110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
      115          120          125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
      130          135          140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
      145          150          155          160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
      165          170          175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
      180          185          190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
      195          200          205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
      210          215          220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
      225          230          235          240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
      245          250          255

```

ES 2 579 987 T3

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510

ES 2 579 987 T3

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 226  
 <211> 1815  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 20G8-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 226  
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60  
 tcttgccgcc ccagcggcct caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120  
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcagccg gacctactac 180  
 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300  
 ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc 360  
 aagggaccca gcgtgttccc cctggcccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420  
 gccctgggct gcctgggtcaa agactacttc cccgagcccc tgaccgtgtc ctggaacagc 480  
 ggagccctga ccagcggcgt gcacacctt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540  
 agcctgagca gcgtgggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga agtggaacc caagagctgc 660  
 gactccggcg gagcgggatc tggcgggtga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720  
 agctccacca agaaaacca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780  
 ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgacct ggatgctgac cgccaagtcc 840  
 gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

ES 2 579 987 T3

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gccagggac 960  
 ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020  
 tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080  
 gccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggagggcggc gatccggcgg aggcggatct 1140  
 ggcgaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcgggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200  
 agcctgagac tgtcttgccg cggcagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260  
 gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcagc 1320  
 cggacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380  
 aacacctgt acctgcagat gaacagcctg cggggcggag acaccgccgt gtactactgc 1440  
 gccaaaggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500  
 agcggcagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560  
 ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620  
 tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680  
 agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacia gaaggtggaa 1800  
 cccaagagct gcgac 1815

<210> 227  
 <211> 605  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> Fab de 4B9-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 227  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly  
 210 215 220  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 260 265 270  
 Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 275 280 285  
 Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 290 295 300  
 Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 305 310 315 320  
 Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 325 330 335

ES 2 579 987 T3

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly  
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

ES 2 579 987 T3

580

585

590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
595 600 605

<210> 228  
<211> 1815  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Fab de 4B9-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 228  
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60  
tcttgcgccg ccagcggcctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120  
cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcggcag cacctactac 180  
gcogacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300  
ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360  
aagggacca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420  
gcocctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480  
ggagccctga ccagcggcgt gcacacctt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540  
agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660  
gactccggcg gagggcgatc tggcgggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720  
agctccacca agaaaacca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780  
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgacct ggatgctgac cgccaagtcc 840  
gccatgcca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900  
cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960  
ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcctg 1020  
tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080  
gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140  
ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200  
agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcacctca gcagctacgc catgagctgg 1260  
gtccgccagc cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcggc 1320  
agcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380  
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggcccagg acaccgccgt gtactactgc 1440

ES 2 579 987 T3

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500  
 agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc ccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560  
 ggcggaacag cgcacctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620  
 tcctggaaca gcgagaccct gaccagggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680  
 agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcaccag 1740  
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800  
 cccaagagct gcgac 1815

<210> 229  
 <211> 605  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 1Fab de 4B3-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 229

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20	25	30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Ala	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100	105	110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	115	120	125	
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	130	135	140	
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser				



ES 2 579 987 T3

```

145                        150                        155                        160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                                170                                175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                180                                185                                190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
                195                                200                                205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
                210                                215                                220
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                                230                                235                                240
Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                                250                                255
Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
                260                                265                                270
Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
                275                                280                                285
Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290                                295                                300
Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                                310                                315                                320
Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                                330                                335
Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
                340                                345                                350
Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
                355                                360                                365
Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370                                375                                380
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                                390                                395                                400

```

ES 2 579 987 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 420 425 430

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 595 600 605

<210> 230  
 <211> 1815  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 1Fab de 4B3-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 230  
 gaggtgcagc tgctcгааag cggcgгagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

ES 2 579 987 T3

tcttgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcc tggagctgggt ccgccaggcc 120  
cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcctggcct ctggcgccat cacctactac 180  
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300  
ttcgggggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc 360  
aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420  
gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480  
ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540  
agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660  
gactccggcg gaggcggatc tggcgggtga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720  
agctccacca agaaaacca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780  
ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgacct ggatgctgac cgccaagtcc 840  
gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900  
cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960  
ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatt 1020  
tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccgggtg gatcaccttc 1080  
gccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140  
ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200  
agcctgagac tgtcttgccg cgcagcggc ttcacctca gcagctacgc catgagctgg 1260  
gtccgccagg cccctggcaa gggactgga tgggtgtccg ccatcctggc ctctggcggc 1320  
atcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttacca tcagccggga caacagcaag 1380  
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440  
gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagc gcaccctggt cacagtgtcc 1500  
agcggcagca ccaagggcc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560  
ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620  
tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680  
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcaccag 1740  
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800  
cccaagagct gcgac 1815

<210> 231  
<211> 215  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> 3F2 cadena ligera

5 <400> 231

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 232

<211> 645

ES 2 579 987 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> 3F2 cadena ligera

<400> 232  
 gagatcgtgc tgaccagtc ccccgccacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60  
 ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120  
 cccggccagg ccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatcct 180  
 gaccggttct cggctctggt ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240  
 cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggcatca tgcctgcccc cacctttggc 300  
 cagggcacca agtggaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360  
 ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420  
 taccctcgcg aggcgaagt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480  
 caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540  
 accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag 600  
 ggctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

10 <210> 233  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> cadena ligera de 4G8

<400> 233  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 234  
 <211> 645  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de 4G8

10 <400> 234  
 gagatcgtgc tgaccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccttggcga gagagccacc 60  
 ctgtcctgca gaggctccca gtccgtgtcc cggtcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120  
 cccggccagg cccctcggct gctgatcatc ggcgcctcta ccagagccac cggcatccct 180  
 gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240  
 cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggccagg tcatccctcc cacctttggc 300  
 cagggcacca aggtggaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttcca 360  
 ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420  
 taccctccgag aggcgaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480  
 caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540  
 accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag 600  
 ggctgtcca gcccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

15 <210> 235  
 <211> 215  
 <212> PRT

ES 2 579 987 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 3D9 cadena ligera

5

<400> 235

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro  
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

<210> 236

10 <211> 645

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> 3D9 cadena ligera

<400> 236

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatcca 180  
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagc ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360  
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540  
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600  
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 237  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 2F11 cadena ligera

10

<400> 237  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser



ES 2 579 987 T3

	50					55						60				
	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
	65					70					75					80
	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Tyr	Thr	Pro
					85					90					95	
	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
				100					105					110		
	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
			115					120					125			
	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
							135					140				
	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
	145					150					155					160
	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
					165						170				175	
	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
				180					185					190		
	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
			195					200					205			
	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
							215									

<210> 238  
 <211> 645  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2F11 cadena ligera

<400> 238  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatocca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactcccc cagttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ES 2 579 987 T3

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540  
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600  
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 239  
 <211> 215  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B3 cadena ligera

10 <400> 239

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	1	5	10	15
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Asn	20	25	30	
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	35	40	45	
Ile	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Ile	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	50	55	60	
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	65	70	75	80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Val	Ile	Pro	85	90	95	
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	100	105	110	
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	115	120	125	
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	130	135	140	
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	145	150	155	160
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu				

ES 2 579 987 T3

165

170

175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 240  
 <211> 645  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B3 cadena ligera

<400> 240  
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcagg ttattcccc tacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360  
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540  
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600  
 ggctgagct cgccogtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 241  
 <211> 613  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 2B10-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 241  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

ES 2 579 987 T3

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys

ES 2 579 987 T3

	275						280								285
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	290					295					300				
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
305					310					315					320
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				325					330					335	
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			340					345					350		
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile
		355					360					365			
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys
385					390					395					400
Lys	Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr
				405					410					415	
Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly
			420					425					430		
Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr
		435					440					445			
Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr
	450					455					460				
Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala
465				470						475					480
Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Phe
				485					490					495	
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
			500					505					510		
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
		515					520					525			

ES 2 579 987 T3

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp  
610

<210> 242  
<211> 1839  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Fab de 2B10-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 242  
caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcttgcaagg cctccgaggg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
tcagctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420  
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg 480  
tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540  
tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 600  
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660  
cccaaactct gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcggg 720  
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840  
acagccaagt ttgcatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

ES 2 579 987 T3

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcaactta 960  
 agaccacagg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080  
 tggattacct ttgccaaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140  
 ggaggtggct ctggcgggtg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200  
 aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260  
 gctataagct ggggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agggatcatc 1320  
 cctatctttg gtacagcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cttactgca 1380  
 gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440  
 gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500  
 caagggacca ccgtgaccgt ctctcagct agcaccaagg gcccatcggg cttccccctg 1560  
 gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620  
 tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680  
 accttcccgg ctgtcctaca gtctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740  
 ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac 1800  
 accaagtggtg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 243  
 <211> 613  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> Fab de C3B6-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 243

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1			5						10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Ala	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Gly	Ile	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65				70					75					80

ES 2 579 987 T3

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys  
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
325 330 335



ES 2 579 987 T3

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
 355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys  
 385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr  
 405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly  
 420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr  
 435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr  
 450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala  
 465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe  
 485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr  
 500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
 565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
 580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
 595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp  
 610

ES 2 579 987 T3

<210> 244  
 <211> 1839  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de C3B6-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 244  
 caggtgcaat tggatgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg cctccggagc cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggtcgcagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaaactac 180  
 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgcccgtg attactgtgc gagactgtac 300  
 ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360  
 tcagctagca ccaagggccc atcggctctc ccctcggcac cctcctcaa gagcacctct 420  
 gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480  
 tegtggaact cagggccctc gaccagggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540  
 tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 600  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca agtggtgataa gaaagttag 660  
 cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcggg 720  
 gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840  
 acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgtc aaagcaaaaa ctttcaacta 960  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggactaaa gggatctgaa 1020  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080  
 tggattacct ttgcccagg catcatctca aactgactt ccggcggag aggatccggc 1140  
 ggaggtggct ctggcgggtg cggacaggtg caattgggtc agtctggggc tgaggtgaag 1200  
 aagcctgggt cctcgggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260  
 gctataagct gggatgcgaca ggcccctgga caagggtctg agtggatggg agctatcatc 1320

ES 2 579 987 T3

ccgatccttg gtatcgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cactactgca 1380  
 gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440  
 gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500  
 caagggacca ccgtgaccgt ctctcagct agcaccaagg gcccatcggg cttccccctg 1560  
 gcaccctoct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620  
 tacttccccg aaccgggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680  
 accttccccg ctgtcctaca gtctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740  
 ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacia gccacgcaac 1800  
 accaagtggtg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 245  
 <211> 613  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 245

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	1		5		10		15					
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	20		25		30							
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35		40		45							
Gly	Val	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	50		55		60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	65		70		75							80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85		90		95							
Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	100		105		110							
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	115		120		125							
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	130		135		140							

ES 2 579 987 T3

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys  
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile  
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys

ES 2 579 987 T3

385 390 395 400  
 Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr  
 405 410 415  
 Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly  
 420 425 430  
 Leu Glu Trp Met Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr  
 435 440 445  
 Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr  
 450 455 460  
 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala  
 465 470 475 480  
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe  
 485 490 495  
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr  
 500 505 510  
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 515 520 525  
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 530 535 540  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 545 550 555 560  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
 565 570 575  
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
 580 585 590  
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
 595 600 605  
 Pro Lys Ser Cys Asp  
 610

<210> 246  
 <211> 1839  
 <212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 246

ES 2 579 987 T3

caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tctctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180  
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300  
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccacogt gaccgtctcc 360  
tcagctagca ccaagggccc atcggctctc ccctggcac cctcctcaa gagcacctct 420  
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480  
tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540  
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcaccag 600  
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660  
cccaaactct gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720  
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840  
acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgtc aaagcaaaaa ctttcaacta 960  
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaaactaaa gggatctgaa 1020  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080  
tggattacct ttgccaaaag catcatctca aactgactt cggcggagg aggatccggc 1140  
ggaggtggct ctggcgggtg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaa 1200  
aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctat 1260  
gctataagct ggggtgcgaca ggcccctgga caaggctcg agtggatggg agtgcacac 1320  
cctatccttg gtaccgcaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cactactgca 1380  
gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440  
gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500  
caagggacca ccgtgaccgt ctctcagct agcaccaagg gccatcgggt cttccccctg 1560  
gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgctt ggtcaaggac 1620  
tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680  
accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740  
ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac 1800  
accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaa tcttgtgac 1839

<210> 247  
<211> 214  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> 2B10 cadena ligera

<400> 247

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
           35           40           45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
           85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
           100          105          110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
           115          120          125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130          135          140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145          150          155          160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
           165          170          175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
           180          185          190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
           195          200          205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

5

<210> 248

<211> 642

10 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cadena ligera de 2B10

15

<400> 248

ES 2 579 987 T3

gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaagtggt cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggtac cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgagc aatggctctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 249  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de D1A2

10 <400> 249

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg	Asn	Asp
			20					25					30		
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Asp	Ala	Tyr	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly



# ES 2 579 987 T3

50	55	60
Gly 65	Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 70 75 80	
Glu 85	Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala 90 95	
Thr 100	Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala 105 110	
Pro 115	Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly 120 125	
Thr 130	Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala 135 140	
Lys 145	Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln 150 155 160	
Glu 165	Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser 170 175	
Ser 180	Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr 185 190	
Ala 195	Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser 200 205	
Phe 210	Asn Arg Gly Glu Cys	

<210> 250

<211> 642

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cadena ligera de D1A2

10 <400> 250

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc	60
atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca	120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca	180
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct	240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag	300
ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca	360

ES 2 579 987 T3

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagc ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 251  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de O7D8

10 <400> 251

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Arg	Asn	Val
			20					25					30		
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Asp	Val	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65				70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asn	Gly	Leu	Gln	Pro	Ala
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
	145				150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser

ES 2 579 987 T3

165

170

175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 252  
 <211> 642  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de O7D8

10

<400> 252 ---  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cggggtcacc 60  
 atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240  
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgagc aatgggtctgc agcccgcgac gtttgccag 300  
 ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 253  
 <211> 615  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

20

<400> 253  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30

ES 2 579 987 T3

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala  
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp  
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
 130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
 210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu  
 245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr  
 260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro

ES 2 579 987 T3

275		280		285											
Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu
290						295					300				
Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His
305					310					315					320
Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu
				325					330					335	
Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr
			340					345					350		
Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser
		355					360					365			
Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
	370					375					380				
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu
385					390					395					400
Val	Lys	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe
				405					410					415	
Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
			420					425					430		
Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Leu	Lys	Ser	Asn	Asn	Phe	Gly
		435					440					445			
Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ala	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp
	450					455					460				
Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu
465					470					475					480
Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Val	Gly	His
				485					490					495	
Tyr	Phe	Asp	His	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala
			500					505					510		
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser
		515					520					525			

ES 2 579 987 T3

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr  
580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys  
595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
610 615

<210> 254  
<211> 1845  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 254  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggctc cctgcggtc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacathtagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120  
cctgaaag gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180  
tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240  
ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg cctgttatta ctgtaccaca 300  
tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360  
tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420  
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480  
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540  
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600  
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660  
gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720  
ggagcacctg cctcaagttc tacaagaaa acacagctac aactggagca ttactgctg 780  
gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccagatg 840  
ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

ES 2 579 987 T3

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaattggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960  
 ttaagaccca gggacttaat cagcaatata aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020  
 gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080  
 agatggatta cctttgcca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140  
 ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200  
 gtcaagcctg gcggttcctt gcggtctctc tgtgcagcct ccggttcac atttagcaac 1260  
 tattggatga actgggtgcg gcaggtcctt ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320  
 agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380  
 atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440  
 gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcaacta cttcgaccac 1500  
 tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggctctc 1560  
 cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620  
 aaggactact tcccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc 1680  
 gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740  
 accgtgccct ccagcagctt gggcaccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800  
 agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 255  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de KV9

10 <400> 255

Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Asp	Thr	Asn
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Pro	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80

ES 2 579 987 T3

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 256  
 <211> 642  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de KV9

10 <400> 256  
 gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60  
 atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120  
 gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
 ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

15 <210> 257



ES 2 579 987 T3

<211> 615  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> MHLG Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 257

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1                               5                               10                               15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20                               25                               30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35                               40                               45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50                               55                               60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                               70                               75                               80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85                               90                               95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100                              105                              110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115                              120                              125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130                              135                              140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                              150                              155                              160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165                              170                              175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180                              185                              190
    
```

ES 2 579 987 T3

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu  
245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr  
260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro  
275 280 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu  
290 295 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His  
305 310 315 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu  
325 330 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr  
340 345 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser  
355 360 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu  
385 390 395 400

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe  
405 410 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly  
435 440 445

ES 2 579 987 T3

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp  
 450 455 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu  
 465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His  
 485 490 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala  
 500 505 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser  
 515 520 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
 530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
 545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
 565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr  
 580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys  
 595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 610 615

<210> 258  
 <211> 1845  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de MHLG-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

10 <400> 258  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggctc cctgcgggctc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120  
 cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180  
 tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240  
 ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

ES 2 579 987 T3

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aaggaccac cgtcaccgtc 360  
 tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 420  
 tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480  
 gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540  
 tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600  
 cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagt 660  
 gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720  
 ggagcacctg cctcaagttc tacaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780  
 gatttacaga tgattttgaa tggaaattaat aattacaaga atcccaact caccaggatg 840  
 ctacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900  
 gaagaagaac tcaaactctt ggaggaagtg ctaaattggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960  
 ttaagacca gggacttaat cagcaatata aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020  
 gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080  
 agatggatta cctttgcccc aagcatcctc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140  
 ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200  
 gtccagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccgattcac atttagcaac 1260  
 tattgatga actgggtgcg gcaggctcct ggaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320  
 agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgtgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380  
 atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440  
 gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttogaccac 1500  
 tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggctctc 1560  
 cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620  
 aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc 1680  
 gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740  
 accgtgccct ccagcagctt gggcaccag acctacatct gcaactgaa tcacaagccc 1800  
 agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 259  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de KV1

10 <400> 259

ES 2 579 987 T3

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 260  
 <211> 642  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de KV1

10 <400> 260

ES 2 579 987 T3

gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtggcgga cggggtcacc 60  
 atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaaccttag cttggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagcac ctaagctoct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
 ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 261  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de KV7

10

<400> 261  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
 20 25 30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

ES 2 579 987 T3

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

5 <210> 262  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> cadena ligera de KV7

<400> 262  
 gatatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60  
 atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120  
 gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcacacctacc ggtacactgg cgtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240  
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300  
 ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat ctccccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

15 <210> 263  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> secuencia líder

ES 2 579 987 T3

<400> 263  
**Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly**  
**1 5 10 15**  
Ala His Ser

5 <210> 264  
<211> 57  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> secuencia líder

<400> 264

15 atggactgga cctggagaat cctctcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 265  
<211> 57  
<212> ADN  
20 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> secuencia líder

25 <400> 265

atggactgga cctggaggat cctctcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 266  
30 <211> 22  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
35 <223> secuencia líder

<400> 266  
**Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly**  
**1 5 10 15**

40 <210> 267  
<211> 66  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> secuencia líder

<400> 267  
atggacatga gggccccgc tcagctcctg ggctcctgc tgctctgggt cccaggtgcc 60

aggtgt 66

50 <210> 268  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> secuencia líder

<400> 268



ES 2 579 987 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Val His Ser

<210> 269  
 <211> 57  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> secuencia líder  
 10 <400> 269  
  
 atgggatgga gctgtatcat cctcttctg gtagcaacag ctaccgggtg gcattcc 57  
 15 <210> 270  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> secuencia líder  
  
 <400> 270  
 25 atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg cactggagt gcattcc 57  
  
 <210> 271  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 30 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> secuencia líder  
 35 <400> 271  
  
 atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct 57  
 40 <210> 272  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 45 <223> secuencia líder  
  
 <400> 272  
 Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu  
 1 5 10 15

Val Thr Asn Ser  
 20

50 <210> 273  
 <211> 60  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>

ES 2 579 987 T3

<223> secuencia líder

<400> 273

5 atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatg gcactaagtc ttgcactgtg cacaaacagt 60

<210> 274

<211> 466

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión humana IL-2R-beta-Fc(ojal)

15 <400> 274

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys  
20 25 30

Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly  
35 40 45

Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg  
50 55 60

Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp  
65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr  
85 90 95

ES 2 579 987 T3

Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp  
100 105 110

Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu  
115 120 125

Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys  
130 135 140

Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His  
145 150 155 160

Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu  
165 170 175

Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu  
180 185 190

Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro  
195 200 205

Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala  
210 215 220

Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp  
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
340 345 350

ES 2 579 987 T3

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys  
 355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370 375 380

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 450 455 460

Gly Lys  
 465

<210> 275  
 <211> 1401  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> proteína de fusión humana IL-2R-beta-Fc(ojal)

<400> 275  
 atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60  
 aggtgtgctg tgaatggcac ttcccagttc acatgcttct acaactcgag agccaacatc 120  
 tcctgtgtct ggagccaaga tggggctctg caggacactt cctgccaagt ccatgcctgg 180  
 ccggacagac ggcggtggaa ccaaacctgt gagctgctcc ccgtgagtca agcatcctgg 240  
 gcctgcaacc tgatcctcgg agccccagat tctcagaaac tgaccacagt tgacatcgtc 300  
 accctgaggg tgctgtgccg tgaggggggtg cgatggaggg tgatggccat ccaggacttc 360  
 aagccctttg agaaccttcg cctgatggcc cccatctccc tccaagttgt ccacgtggag 420  
 acccacagat gcaacataag ctgggaaatc tcccaagcct cccactactt tgaaagacac 480  
 ctggagtctg aggcccggac gctgtcccca ggccacacct gggaggaggc ccccctgctg 540  
 actctcaagc agaagcagga atggatctgc ctggagacgc tcaccccaga caccagtat 600

ES 2 579 987 T3

gagtttcagg tgcgggtcaa gcctctgcaa ggcgagttca cgacctggag cccctggagc 660  
 cagcccctgg ccttcagaac aaagcctgca gcccttggga aggacaccgg agctcaggac 720  
 aaaactcaca catgcccacc gtgccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 780  
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 840  
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900  
 gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960  
 gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020  
 aaggtctcca acaaagcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg 1080  
 cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1140  
 caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200  
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260  
 ggctccttct tctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320  
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380  
 tcctgtctc cgggtaaag a 1401

<210> 276

<211> 492

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> proteína de fusión humana IL-2R-gamma-Fc(botón)

<400> 276

Met	Leu	Lys	Pro	Ser	Leu	Pro	Phe	Thr	Ser	Leu	Leu	Phe	Leu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Pro	Leu	Leu	Gly	Val	Gly	Leu	Asn	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	Pro	Asn	Gly
			20					25					30		
Asn	Glu	Asp	Thr	Thr	Ala	Asp	Phe	Phe	Leu	Thr	Thr	Met	Pro	Thr	Asp
		35					40					45			
Ser	Leu	Ser	Val	Ser	Thr	Leu	Pro	Leu	Pro	Glu	Val	Gln	Cys	Phe	Val
	50					55					60				
Phe	Asn	Val	Glu	Tyr	Met	Asn	Cys	Thr	Trp	Asn	Ser	Ser	Ser	Glu	Pro
65					70					75					80
Gln	Pro	Thr	Asn	Leu	Thr	Leu	His	Tyr	Trp	Tyr	Lys	Asn	Ser	Asp	Asn
				85					90					95	

ES 2 579 987 T3

Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr  
 100 105 110  
 Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe  
 115 120 125  
 Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln  
 130 135 140  
 Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu  
 145 150 155 160  
 Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn  
 165 170 175  
 Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp  
 180 185 190  
 Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe  
 195 200 205  
 Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg  
 210 215 220  
 Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp  
 225 230 235 240  
 Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 260 265 270  
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 275 280 285  
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 290 295 300  
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 325 330 335  
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 340 345 350

ES 2 579 987 T3

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg  
 385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly  
 405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 485 490

<210> 277  
 <211> 1479  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> proteína de fusión humana IL-2R-gamma-Fc(botón)

10 <400> 277  
 atggtgaagc catcattacc attcacatcc ctcttattcc tgcagctgcc cctgctggga 60  
 gtggggctga acacgacaat tctgacgccc aatgggaatg aagacaccac agctgatttc 120  
 ttcttgacca ctatgcccac tgactccctc agtggtttcca ctctgccoct cccagaggtt 180  
 cagtgttttg tgttcaatgt cgagtacatg aattgcactt ggaacagcag ctctgagccc 240  
 cagcctaacca acctcactct gcattattgg tacaagaact cggataatga taaagtccag 300  
 aagtgcagcc actatctatt ctctgaagaa atcacttctg gctgtcagtt gcaaaaaaag 360  
 gagatccacc tctaccaaac atttgttgtt cagctccagg acccacggga acccaggaga 420  
 caggccacac agatgctaaa actgcagaat ctggtgatcc cctgggctcc agagaaccta 480  
 acacttcaca aactgagtga atcccagcta gaactgaact ggaacaacag attcttgaac 540

ES 2 579 987 T3

cactgtttgg agcacttggg gcagtaccgg actgactggg accacagctg gactgaacaa 600  
 tcagtggatt atagacataa gttctccttg cctagtgagg atgggcagaa acgctacacg 660  
 tttcgtgttc ggagccgctt taaccactc tgtggaagtg ctcagcattg gagtgaatgg 720  
 agccacccaa tccactgggg gagcaatact tcaaaagaga atcctttcct gtttgattg 780  
 gaagccggag ctcaggacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaactcctg 840  
 gggggaccgt cagtcttct cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg 900  
 acccctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtcc 960  
 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgag ggaggagcag 1020  
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080  
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140  
 atctccaaag ccaaggggca gccccgaga ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg 1200  
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggcgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1260  
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320  
 cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380  
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440  
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata 1479

<210> 278  
 <211> 219  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2R subunidad alfa humana + etiqueta Avi + etiqueta His

10 <400> 278

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1				5					10					15	
Val	His	Ser	Glu	Leu	Cys	Asp	Asp	Asp	Pro	Pro	Glu	Ile	Pro	His	Ala
			20					25					30		
Thr	Phe	Lys	Ala	Met	Ala	Tyr	Lys	Glu	Gly	Thr	Met	Leu	Asn	Cys	Glu
		35					40					45			
Cys	Lys	Arg	Gly	Phe	Arg	Arg	Ile	Lys	Ser	Gly	Ser	Leu	Tyr	Met	Leu
	50					55					60				
Cys	Thr	Gly	Asn	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Trp	Asp	Asn	Gln	Cys	Gln	Cys
65					70					75					80



ES 2 579 987 T3

Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro  
 85 90 95

Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln  
 100 105 110

Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro  
 115 120 125

Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln  
 130 135 140

Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly  
 145 150 155 160

Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr  
 165 170 175

Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln  
 180 185 190

Gly Gly Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp  
 195 200 205

His Glu Ala Arg Ala His His His His His His  
 210 215

<210> 279  
 <211> 660  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2R subunidad alfa humana + etiqueta Avi + etiqueta His

10 <400> 279  
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60  
 ctctgtgacg atgaccgcc agagatccca cacgccacat tcaaagccat ggcctacaag 120  
 gaaggaacca tgttgaactg tgaatgcaag agaggtttcc gcagaataaa aagcgggtca 180  
 ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc cactcgtcct gggacaacca atgtcaatgc 240  
 acaagetctg ccactcgaa cacaacgaaa caagtgcac ctcaacctga agaacagaaa 300  
 gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca atgcagccag tggaccaagc gagccttcca 360  
 ggctactgca gggaacctcc accatgggaa aatgaagcca cagagagaat ttatcatttc 420  
 gtggtggggc agatggttta ttatcagtgc gtccagggat acagggctct acacagaggt 480  
 cctgctgaga gcgtctgcaa aatgaccac gggaagacaa ggtggaccca gccccagctc 540  
 atatgcacag gtgtcgacga acagttatat tttcaggcgg gctcaggcct gaacgacatc 600  
 ttcgaggccc agaagatcga gtggcacgag gctcagctc accaccatca ccatcactga 660

15 <210> 280  
 <211> 473  
 <212> PRT

ES 2 579 987 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión murina IL-2R-beta-Fc(ojal)

5

<400> 280

```

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1          5          10          15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Lys
          20          25          30

Asn Cys Ser His Leu Glu Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Val Ser
          35          40          45

Cys Met Trp Ser His Glu Glu Ala Leu Asn Val Thr Thr Cys His Val
 50          55          60

His Ala Lys Ser Asn Leu Arg His Trp Asn Lys Thr Cys Glu Leu Thr
 65          70          75          80

Leu Val Arg Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ser Phe
          85          90          95

Pro Glu Ser Gln Ser Leu Thr Ser Val Asp Leu Leu Asp Ile Asn Val
          100          105          110

Val Cys Trp Glu Glu Lys Gly Trp Arg Arg Val Lys Thr Cys Asp Phe
          115          120          125

His Pro Phe Asp Asn Leu Arg Leu Val Ala Pro His Ser Leu Gln Val
          130          135          140

Leu His Ile Asp Thr Gln Arg Cys Asn Ile Ser Trp Lys Val Ser Gln
 145          150          155          160

Val Ser His Tyr Ile Glu Pro Tyr Leu Glu Phe Glu Ala Arg Arg Arg
          165          170          175

Leu Leu Gly His Ser Trp Glu Asp Ala Ser Val Leu Ser Leu Lys Gln
          180          185          190

```

ES 2 579 987 T3

Arg Gln Gln Trp Leu Phe Leu Glu Met Leu Ile Pro Ser Thr Ser Tyr  
 195 200 205

Glu Val Gln Val Arg Val Lys Ala Gln Arg Asn Asn Thr Gly Thr Trp  
 210 215 220

Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Thr Phe Arg Thr Arg Pro Ala Asp Pro  
 225 230 235 240

Met Lys Glu Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 420 425 430

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 435 440 445  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

ES 2 579 987 T3

<210> 281  
 <211> 1422  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> proteína de fusión murina IL-2R-beta-Fc(ojal)

<400> 281  
 atggacatga gggctccccgc tcagctcctg ggctcctgc tgctctggtt cccctcctg 60  
 ctgctctggt tcccaggtgc caggtgtgca gtgaaaaact gttcccatct tgaatgcttc 120  
 tacaactcaa gagccaatgt ctcttgcattg tggagccatg aagaggctct gaatgtcaca 180  
 acctgccacg tccatgcca gtcgaacctg cgacactgga acaaacctg tgagtaact 240  
 cttgtgaggc aggcattcctg ggctgcaac ctgacccctg ggtcgttccc agatcccag 300  
 tcactgacct ccgtggacct ccttgacata aatgtggtgt gctgggaaga gaagggttg 360  
 cgtagggtaa agacctgca cttccatccc ttgacaacc ttcgctggt ggccccctcat 420  
 tcctccaag ttctgacat tgatacccag agatgtaaca taagctgaa ggtctcccag 480  
 gtctctcact acattgaacc aacttggaa ttgaggccc gtagacgtct tctgggccac 540  
 agctgggagg atgcatccgt attaagcctc aagcagagac agcagtggct cttcttgag 600  
 atgctgatcc ctagtacctc atatgaggtc caggtgaggg tcaaagctca acgaaacaat 660  
 accgggacct ggagtcctctg gagccagccc ctgaccttc ggacaaggcc agcagatccc 720  
 atgaaggagg gagctcagga caaaactcac acatgcccac cgtgccagc acctgaactc 780  
 ctggggggac cgtcagctt cctcttcccc caaaaccca aggaccct catgatctcc 840  
 cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 900  
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 960  
 cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtccctaccg tcttgcacca ggactggctg 1020  
 aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc acaaagccc tcccagccc catcgagaaa 1080  
 accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtgcaccct gccccatcc 1140  
 cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctctcgtgc cagtcaaagg cttctatccc 1200  
 agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag 1260  
 10 cctccctgtc tggactccga cggctcctt ttctctgta gcaagctcac cgtggacaag 1320  
 agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctcctgta tgcatgaggc tctgcacaac 1380  
 cactacagc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

<210> 282  
 <211> 500  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> proteína de fusión murina IL-2R-gamma-Fc(botón)

20

<400> 282

ES 2 579 987 T3

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Trp Ser Ser  
 20 25 30

Lys Val Leu Met Ser Ser Ala Asn Glu Asp Ile Lys Ala Asp Leu Ile  
 35 40 45

Leu Thr Ser Thr Ala Pro Glu His Leu Ser Ala Pro Thr Leu Pro Leu  
 50 55 60

Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Ile Glu Tyr Met Asn Cys Thr  
 65 70 75 80

Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Ala Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr  
 85 90 95

Arg Tyr Lys Val Ser Asp Asn Asn Thr Phe Gln Glu Cys Ser His Tyr  
 100 105 110

Leu Phe Ser Lys Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Ile Gln Lys Glu Asp  
 115 120 125

Ile Gln Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Gln Lys  
 130 135 140

Pro Gln Arg Arg Ala Val Gln Lys Leu Asn Leu Gln Asn Leu Val Ile  
 145 150 155 160

Pro Arg Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Ser Asn Leu Ser Glu Ser Gln  
 165 170 175

Leu Glu Leu Arg Trp Lys Ser Arg His Ile Lys Glu Arg Cys Leu Gln  
 180 185 190

ES 2 579 987 T3

Tyr Leu Val Gln Tyr Arg Ser Asn Arg Asp Arg Ser Trp Thr Glu Leu  
 195 200 205  
 Ile Val Asn His Glu Pro Arg Phe Ser Leu Pro Ser Val Asp Glu Leu  
 210 215 220  
 Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Tyr Asn Pro Ile Cys Gly  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Gln Gln Trp Ser Lys Trp Ser Gln Pro Val His Trp Gly Ser  
 245 250 255  
 His Thr Val Glu Glu Asn Pro Ser Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala  
 260 265 270  
 Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 275 280 285  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 290 295 300  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 305 310 315 320  
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 325 330 335  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 340 345 350  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 355 360 365  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 370 375 380  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 385 390 395 400  
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val  
 405 410 415  
 Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 420 425 430  
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 435 440 445

ES 2 579 987 T3

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 485 490 495

Ser Pro Gly Lys  
 500

<210> 283  
 <211> 1503  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> proteína de fusión murina IL-2R-gamma-Fc(botón)

<400> 283  
 atggacatga gggccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccctcctg 60  
 ctgctctggt tcccagggtc cagggtgttg agttccaag tcctcatgtc cagtgcgaat 120  
 gaagacatca aagctgattt gatcctgact tctacagccc ctgaacacct cagtgtcctt 180  
 actctgcccc ttccagaggt tcagtgcttt gtgttcaaca tagagtacat gaattgcact 240  
 tggaatagca gttctgagcc tcaggcaacc aacctcacgc tgcaactatag gtacaaggta 300  
 tctgataata atacattcca ggagtgcagt cactatttgt tctccaaaga gattacttct 360  
 ggctgtcaga taaaaaaga agatatccag ctctaccaga catttggtgt ccagctccag 420  
 gacccccaga aacccagag gcgagctgta cagaagctaa acctacagaa tcttgtgatc 480  
 ccacgggctc cagaaaatct aacactcagc aatctgagtg aatcccagct agagctgaga 540  
 tggaaaagca gacatattaa agaacgctgt ttacaatact tgggtgcagta ccggagcaac 600  
 agagatcgaa gctggacgga actaatagtg aatcatgaac cttagattctc cctgcctagt 660  
 gtggatgagc tgaaacggtc cacatttogg gttcggagcc gctataacct aatctgtgga 720  
 agttctcaac agtggagtaa atggagccag cctgtccact gggggagtca tactgtagag 780  
 gagaatcctt ccttgtttgc actggaagct ggagctcagg acaaaactca cacatgcca 840  
 ccgtgccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacct 900  
 aaggacacct tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 960  
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc 1020  
 aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1080  
 gtctctgacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc 1140

ES 2 579 987 T3

```
ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1200
gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc 1260
ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc 1320
gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt ctctctctac 1380
agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1440
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1500
tga 1503
```

<210> 284  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2R subunidad alfa murina + etiqueta Avi + etiqueta His

<400> 284

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly
1				5					10					15	
Val	His	Ser	Glu	Leu	Cys	Leu	Tyr	Asp	Pro	Pro	Glu	Val	Pro	Asn	Ala
			20					25						30	
Thr	Phe	Lys	Ala	Leu	Ser	Tyr	Lys	Asn	Gly	Thr	Ile	Leu	Asn	Cys	Glu
		35					40					45			
Cys	Lys	Arg	Gly	Phe	Arg	Arg	Leu	Lys	Glu	Leu	Val	Tyr	Met	Arg	Cys
	50					55					60				
Leu	Gly	Asn	Ser	Trp	Ser	Ser	Asn	Cys	Gln	Cys	Thr	Ser	Asn	Ser	His
65					70					75					80
Asp	Lys	Ser	Arg	Lys	Gln	Val	Thr	Ala	Gln	Leu	Glu	His	Gln	Lys	Glu
				85					90					95	
Gln	Gln	Thr	Thr	Thr	Asp	Met	Gln	Lys	Pro	Thr	Gln	Ser	Met	His	Gln
			100					105					110		
Glu	Asn	Leu	Thr	Gly	His	Cys	Arg	Glu	Pro	Pro	Pro	Trp	Lys	His	Glu
		115					120					125			
Asp	Ser	Lys	Arg	Ile	Tyr	His	Phe	Val	Glu	Gly	Gln	Ser	Val	His	Tyr
	130					135					140				
Glu	Cys	Ile	Pro	Gly	Tyr	Lys	Ala	Leu	Gln	Arg	Gly	Pro	Ala	Ile	Ser



# ES 2 579 987 T3

145	150	155	160
Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu	165	170	175
Thr Cys Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Gly Leu Asn	180	185	190
Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Ala Arg Ala His	195	200	205
His His His His His	210		

5 <210> 285  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> IL-2R subunidad alfa murina + etiqueta Avi + etiqueta His

<400> 285

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgaa	60
ctgtgtctgt atgaccacc cgaggtcccc aatgccacat tcaaagccct ctcctacaag	120
aacggcacca tcctaaactg tgaatgcaag agaggtttcc gaagactaaa ggaattggtc	180
tatatgogtt gcttaggaaa ctcctggagc agcaactgcc agtgcaccag caactcccat	240
gacaaatcga gaaagcaagt tacagctcaa cttgaacacc agaaagagca acaaaccaca	300
acagacatgc agaagccaac acagtctatg caccaagaga accttacagg tcaactgcagg	360
gagccacctc cttggaaca tgaagattcc aagagaatct atcatttctg ggaaggacag	420
agtgttcact acgagtgtat tccgggatac aaggctctac agagaggtcc tgctattagc	480
atctgcaaga tgaagtgtgg gaaaacgggg tggactcagc cccagctcac atgtgtcgac	540
gaacagttat attttcaggg cggctcaggc ctgaacgaca tcttcgaggc ccagaagatc	600
gagtggcacg aggctcgagc tcaccacat caccatcact ga	642

15 <210> 286  
 <211> 480  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> proteína de fusión de Cynomolgous IL-2R-beta-Fc(botón) + etiqueta Avi

<400> 286

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1                      5                                      10    15

ES 2 579 987 T3

Val His Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Arg Phe Thr Cys Phe Tyr Asn  
 20 25 30

Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln  
 35 40 45

Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn  
 50 55 60

Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn  
 65 70 75 80

Leu Ile Leu Gly Thr Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Ala Val Asp Ile  
 85 90 95

Val Thr Leu Arg Val Met Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp Arg Met Met  
 100 105 110

Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro  
 115 120 125

Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser  
 130 135 140

Trp Lys Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe  
 145 150 155 160

Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu  
 165 170 175

Met Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr  
 180 185 190

Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly  
 195 200 205

Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr  
 210 215 220

Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp Lys Thr His  
 225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

# ES 2 579 987 T3

260	265	270
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu 275 280 285		
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys 290 295 300		
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser 305 310 315 320		
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys 325 330 335		
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile 340 345 350		
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro 355 360 365		
Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu 370 375 380		
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 385 390 395 400		
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser 405 410 415		
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 420 425 430		
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 435 440 445		
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser 450 455 460		
Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu 465 470 475 480		

<210> 287  
 <211> 1443  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> proteína de fusión de Cynomolgous IL-2R-beta-Fc(botón) + etiqueta Avi

10

<400> 287

ES 2 579 987 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgcg 60  
 gtcaacggca cttccccggt cacatgcttc tacaactcga gagccaacat ctctgtgtc 120  
 tggagccaag atggggctct gcaggacact tcctgccaag tccacgcctg gccggacaga 180  
 cggcggtgga accaaacctg tgagctgctc cctgtgagtc aagcatcctg ggcctgcaac 240  
 ctgatcctcg gaaccccaga ttctcagaaa ctgaccgcag tggatatcgt caccctgagg 300  
 gtgatgtgcc gtgaaggggt gcgatggagg atgatggcca tccaggactt caaaccttt 360  
 gagaaccttc gcctgatggc ccccatctcc ctccaagtcg tccacgtgga gaccacaga 420  
 tgcaacataa gctggaaaat ctccaagcc tcccactact ttgaaagaca cctggagttt 480  
 gaggcccgga cgctgtcccc aggccacacc tgggaggagg cccccctgat gaccctcaag 540  
 cagaagcagg aatggatctg cctggagacg ctaccccag acaccagta tgagtttcag 600  
 gtgcggtca agcctctgca aggcgagttc acgacctgga gccctggag ccagcccctg 660  
 gccttcagga caaagcctgc agccttggg aaggacaccg gagctcagga caaaactcac 720  
 acatgccac cgtgccacg acctgaactc ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 780  
 ccaaaaccca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg 840  
 gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900  
 cataatgcca agacaaagcc ggggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960  
 gtctcaaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020  
 aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080  
 gaaccacagg tgtacacct gcccccattc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1140  
 ctgtggtgcc tgggtcaaag ctcttatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200  
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgctg tggactccga cggtccttc 1260  
 ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320  
 tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380  
 ccgggtaaat ccggaggcct gaacgacatc ttcgaggccc agaagattga atggcacgag 1440  
 tga 1443

<210> 288

<211> 489

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> proteína de fusión de Cynomolgous IL-2R-gamma-Fc(ojal)

<400> 288

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

# ES 2 579 987 T3

1                      5                      10                      15

Val His Ser Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly Asn Glu Asp  
                        20                          25                          30

Ala Thr Thr Asp Phe Phe Leu Thr Ser Met Pro Thr Asp Ser Leu Ser  
                        35                          40                          45

Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Val  
                        50                          55                          60

Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Pro Thr  
65                          70                          75                          80

Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn Asp Lys Val  
                        85                          90                          95

Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr Ser Gly Cys  
                        100                          105                          110

Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln  
                        115                          120                          125

Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln Met Leu Lys  
                        130                          135                          140

Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Arg  
145                          150                          155                          160

Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg Phe Leu  
                        165                          170                          175

Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp Asp His  
                        180                          185                          190

Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser Leu Pro  
                        195                          200                          205

Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Phe  
210                          215                          220

Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser His Pro  
225                          230                          235                          240

Ile His Trp Gly Ser Asn Ser Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala  
                        245                          250                          255

ES 2 579 987 T3

Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 260 265 270

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 275 280 285

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 290 295 300

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 305 310 315 320

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 325 330 335

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 340 345 350

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 355 360 365

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 370 375 380

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 385 390 395 400

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 405 410 415

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 420 425 430

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 435 440 445

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 450 455 460

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 465 470 475 480

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 485

<210> 289  
 <211> 1470  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>

ES 2 579 987 T3

<223> proteína de fusión de Cynomolgous IL-2R-gamma-Fc(ojal)

<400> 289

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccctg	60
aacacgacaa ttctgacgcc caatgggaat gaagacgcca caactgattt cttcctgacc	120
tctatgccca ctgactccct cagtgtttcc actctgcccc tcccagaggt tcagtgtttt	180
gtgttcaatg tgcagtacat gaattgcact tggaaacagca gctctgagcc ccagcctacc	240
aacctcactc tgcattattg gtacaagaat tgcgataatg ataaagtcca gaagtgcagc	300
cactatctat tctctgaaga aatcacttct ggctgtcagt tgcaaaaaaa ggagatccac	360
ctctacaaa cgtttgttgt tcagctccag gaccacggg aaccaggag acaggccaca	420
cagatgctaa aactgcagaa tctgtgatc ccctgggctc cggagaacct aaccttcgc	480
aaactgagtg aatcccagct agaactgaac tggaaaca gattctttaa cactgtttg	540
gagcacttgg tgcagtaccg gactgactgg gaccacagct ggactgaaca atcagtggat	600
tatagacata agttctcctt gcctagtgtg gatgggcaga aacgctacac gtttcgtgtc	660
cggagccgct ttaaccact ctgtggaagt gctcagcatt ggagtgaat gagccacca	720
atccactggg ggagcaatag ttcaaaagag aatcctttcc tgtttgcatt ggaagccgga	780
gctcaggaca aaactcacac atgccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg	840
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctccc gaccctgag	900
gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac	960
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	1020
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	1080
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa	1140
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatccc ggatgagctg	1200
accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgc	1260
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg	1320
gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1380
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1440
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga	1470

5

<210> 290

<211> 217

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> IL-2R subunidad alfa de Cynomolgus + etiqueta Avi + etiqueta His

<400> 290

ES 2 579 987 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Lys Ile Thr His Ala Thr Phe Lys  
 20 25 30

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg  
 35 40 45

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Pro Tyr Met Leu Cys Thr Gly  
 50 55 60

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser  
 65 70 75 80

Ala Ala Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln  
 85 90 95

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp  
 100 105 110

Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn  
 115 120 125

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr  
 130 135 140

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu  
 145 150 155 160

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln  
 165 170 175

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly  
 180 185 190

Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
 195 200 205

Ala Arg Ala His His His His His His  
 210 215

<210> 291  
 <211> 654  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2R subunidad alfa de Cynomolgus + etiqueta Avi + etiqueta His

10 <400> 291



ES 2 579 987 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtga gctctgtgac 60  
gatgacccgc caaaaatcac acatgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc 120  
atggtgaact gtgaatgcaa gagaggttcc cgcagaataa aaagcgggtc accctatatg 180  
ctctgtacag gaaactctag ccaactcgtcc tgggacaacc aatgtcaatg cacaagctct 240  
gctgctcggg acacaacaaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaagaaaa 300  
accacagaaa tgcaaatgca aatgcagctg gcggaaccaag tgagccttcc aggtcactgc 360  
aggaacctc caccgtggga aatgaagcc acagaaagaa tttatcattt cgtggtgggg 420  
cagacgggtt actaccagtg cgtccaggga tacagggtcc tacacagagg tcctgctgag 480  
agcgtctgca aatgaccca cgggaagaca agatggacct agccccagct catatgcaca 540  
ggtgaagtcg acgaacagtt atattttcag ggcggctcag gcctgaacga catcttcgag 600  
gccagaaga tcgagtggca cgaggctcga gctcaccacc atcaccatca ctga 654

<210> 292  
<211> 399  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> IL-2 (C125A) de tipo salvaje (4)

<400> 292  
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
agaccagggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
tggattacct ttgcccaaag catcatctca aactgact 399

<210> 293  
15 <211> 399  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> IL-2 mutante L72G (C125A) (4)

<400> 293  
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgtc aaagcaaaaa ctttactta 240  
agaccagggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
tggattacct ttgcccaaag catcatctca aactgact 399

ES 2 579 987 T3

<210> 294  
 <211> 399  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> IL-2 mutante L72G / F42A (C125A) (4)  
  
 10 <400> 294  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399  
  
 <210> 295  
 <211> 399  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A) (4)  
  
 20 <400> 295  
 gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399  
  
 <210> 296  
 <211> 399  
 25 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> IL-2 cuádruple mutante T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (4)  
  
 <400> 296

ES 2 579 987 T3

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60  
 ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120  
 acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180  
 gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttactta 240  
 agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300  
 acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360  
 tggattacct ttgccc aaag catcatctca aactgact 399

<210> 297  
 <211> 593  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 28H1 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 297

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	His	20	25	30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Ile	Trp	Ala	Ser	Gly	Glu	Gln	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	50	55	60	
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	65	70	75	80
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	85	90	95	
Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	115	120	125	

ES 2 579 987 T3

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val  
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

ES 2 579 987 T3

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser  
 450 455 460

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 465 470 475 480

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 485 490 495

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 500 505 510

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 515 520 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 530 535 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 545 550 555 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 565 570 575

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 580 585 590

Thr

<210> 298  
 <211> 1779  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Fab de 28H1 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

ES 2 579 987 T3

<400> 298  
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60  
tcttgcccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120  
cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180  
gactctgtga agggccgggt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240  
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgcaa gggtggctg 300  
ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360  
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420  
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc 480  
gccctgacca gggcggtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac 600  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660  
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc 720  
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 780  
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840  
gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900  
gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960  
aaggctcca acaaagccct cggcgcccc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg 1020  
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatgcc gggatgagct gaccaagaac 1080  
caggtcagcc tgtggtgctt ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140  
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200  
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260  
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320  
tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggctcc 1380  
gcacctgcct caagtctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 1440  
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 1500  
acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 1560  
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgtc aaagcaaaaa ctttactta 1620  
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1680  
acaacattca tgtgtgaata tctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1740  
tggattacct ttgcccaaag catcatctca aactgact 1779

5

<210> 299  
<211> 446  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10

<220>

ES 2 579 987 T3

<223> Fab de 28H1 cadena pesada-Fc (ojal)

<400> 299

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

ES 2 579 987 T3

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val  
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 300  
 <211> 1338  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Fab de 28H1 cadena pesada-Fc (ojal)



ES 2 579 987 T3

<400> 300  
 gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60  
 tcctgcgccg cctccggcct caccctctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120  
 cctggcaaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggct cggcgagca gtactacgcc 180  
 gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240  
 cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgcca gggctggctg 300  
 ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360  
 ggcccctccg tgttccccct ggccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct 420  
 ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc gagccctga ccgtgtcctg gaacagcgga 480  
 gccctgacct ccggcgtgca caccctccc gccgtgtgc agagtcttg cctgtatagc 540  
 ctgagcagcg tggtaaccgt gccttctagc agcctgggca ccagacctt catctgcaac 600  
 gtgaaccaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaagg tggagccca gagctgcgac 660  
 aaaaactaca catgccacc gtgccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc 720  
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 780  
 gtggtggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840  
 gtggagggtc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900  
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960  
 aaggctccca acaaagccct cggcgcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020  
 cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1080  
 caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaagc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg 1140  
 gagagcaatg ggcagcggga gaacaactac aagaccagc ctcccgtgct ggactccgac 1200  
 ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260  
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320  
 tcctgtctc cgggtaaa 1338

- 5 <210> 301
- <211> 594
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Fab de 4B9 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm
- <400> 301

ES 2 579 987 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

ES 2 579 987 T3

245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala  
 450 455 460  
 Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu  
 465 470 475 480  
 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys  
 485 490 495

ES 2 579 987 T3

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr  
 500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu  
 515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg  
 530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser  
 545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val  
 565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr  
 580 585 590

Leu Thr

<210> 302  
 <211> 1782  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de 4B9 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

10

<400> 302  
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60  
 tcttgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120  
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180  
 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcy ggcggaggac accgccgtgt actactgcy caagggatgg 300  
 ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc 360  
 aagggcccat cggctcttcc cctggcacc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
 gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtctc aggactctac 540  
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
 gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720  
 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

ES 2 579 987 T3

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960  
 tgcaaggtct ccaacaaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat gccgggatga gctgaccaag 1080  
 aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200  
 gacggtcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260  
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320  
 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380  
 tccgcacctg cctcaagttc tacaagaaa acacagctac aactggagca ttactgctg 1440  
 gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500  
 ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560  
 gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaattggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620  
 ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680  
 gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740  
 agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaaacactga ct 1782

<210> 303

<211> 447

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Fab de 4B9 cadena pesada-Fc (ojal)

<400> 303

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

ES 2 579 987 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

# ES 2 579 987 T3

325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro 340 345 350		
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 355 360 365		
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 370 375 380		
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser 385 390 395 400		
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 405 410 415		
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 420 425 430		
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 435 440 445		

5 <210> 304  
 <211> 1341  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Fab de 4B9 cadena pesada-Fc (ojal)

<400> 304  
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60  
 tcttgcccg ccagcggcct cacctcagc agctacgcc ttagctgggt ccgccaggcc 120  
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180  
 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcg caagggatgg 300  
 ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc 360  
 aagggcccct ccgtgttccc cctggcccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420  
 gctctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgagcccc tgaccgtgtc ctggaacagc 480  
 ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540  
 agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600  
 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660  
 gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ES 2 579 987 T3

```

ttctcttcc ccccaaac caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag      960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag     1080
aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1200
gacggctcct tcttctcgtg gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg     1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1320
ctctccctgt ctccgggtaa a                                               1341

```

<210> 305  
 <211> 592  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de DP47GS cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 305

```

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20           25           30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35           40           45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85           90           95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100          105          110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

```



ES 2 579 987 T3

115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys  
 340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

ES 2 579 987 T3

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser  
 450 455 460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu  
 465 470 475 480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr  
 485 490 495

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu  
 500 505 510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val  
 515 520 525

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu  
 530 535 540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr  
 545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe  
 565 570 575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 580 585 590

<210> 306  
 <211> 1776  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de DP47GS cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

10 <400> 306

ES 2 579 987 T3

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaag ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc 300  
 ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc 360  
 ccatcggctc tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg 420  
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcagggccc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540  
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660  
 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctc 720  
 ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctccogga cccctgaggt cacatgcgtg 780  
 gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900  
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960  
 gtctccaaca aagccctcgg cgccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag 1080  
 gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatgccctg ggagtgggag 1140  
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200  
 tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260  
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320  
 ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggagggt ctggcggagg tggctccgca 1380  
 cctgcctcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta 1440  
 cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca 1500  
 gccaaagttg ccatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa 1560  
 gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ggcgctcaa gcaaaaactt tcacttaaga 1620  
 cccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca 1680  
 acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg 1740  
 attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact 1776

<210> 307  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab de DP47GS cadena pesada-Fc (ojal)

5

10

ES 2 579 987 T3

<400> 307

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

ES 2 579 987 T3

210		215		220											
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225					230					235					240
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			245						250					255	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			260					265					270		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		275					280					285			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	290					295					300				
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305					310					315					320
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				325					330					335	
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			340					345					350		
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys
		355					360					365			
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
	370					375					380				
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
385					390					395					400
Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			405						410					415	
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
			420					425					430		
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435						440				445			

<210> 308  
 <211> 1335  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Fab de DP47GS cadena pesada-Fc (ojal)

ES 2 579 987 T3

<400> 308  
gaggtgcaat tghtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc 300  
ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc 360  
ccctccgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgctctg 420  
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480  
ctgacctccg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gttctggcct gtatagcctg 540  
agcagcgtgg tcaccgtgcc ttctagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agccaagag ctgcgacaaa 660  
actcacacat gccccacgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctc 720  
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780  
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900  
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960  
gtctccaaca aagccctcgg cgccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
ccccgagaac cacaggtgtg caccctgcc ccatccggg atgagctgac caagaaccag 1080  
gtcagcctct cgtgcgcagt caaaggctt tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140  
agcaatggg agccggagaa caactacaag accacgctc cgtgctgga ctccgacggc 1200  
tccttcttcc tcgtgagcaa gctcacogtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260  
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa ggcctctcc 1320  
ctgtctcgg gtaaa 1335

5 <210> 309  
<211> 215  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> cadena ligera de DP47GS

<400> 309

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

ES 2 579 987 T3

```

1              5              10              15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
      20              25              30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
      35              40              45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
      50              55              60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
      65              70              75

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
      85              90              95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
      100             105             110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
      115             120             125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
      130             135             140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
      145             150             155

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
      165             170             175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
      180             185             190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
      195             200             205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210             215

```

<210> 310  
 <211> 645  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera de DP47GS

10 <400> 310

ES 2 579 987 T3

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc 300  
 caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtott catcttcccg 360  
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540  
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgccaagt cacccatcag 600  
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 311  
 <211> 108  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CH1A1A; VL

10 <400> 311

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Ala	Ala	Val	Gly	Thr	Tyr
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Lys	Arg	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65				70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Pro	Leu
				85					90					95	
Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 312  
 15 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 20 <223> CH1A1A; VL



ES 2 579 987 T3

<400> 312  
 gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatggtg cgtggatatca gcagaaacca 120  
 gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaagggg agtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300  
 cagggcacca agctcgagat caag 324

5 <210> 313  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> CH1A1A; VH

<400> 313  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 314  
 <211> 363  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CH1A1A; VH

<400> 314

ES 2 579 987 T3

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120  
 ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180  
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240  
 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300  
 ttgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagc gcaccaccgt gaccgtgtct 360  
 agc 363

<210> 315

<211> 594

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Fab de 4G8 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 315

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

ES 2 579 987 T3

	115						120						125						
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys				
	130						135				140								
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser				
	145				150					155					160				
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser				
				165					170					175					
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser				
			180					185					190						
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn				
		195					200					205							
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His				
	210					215					220								
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val				
	225				230					235					240				
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr				
				245					250					255					
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu				
			260					265					270						
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys				
		275					280					285							
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser				
	290					295					300								
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys				
	305				310					315					320				
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile				
				325					330					335					
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro				
			340					345					350						
Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu				
		355					360					365							

ES 2 579 987 T3

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala  
 450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu  
 465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys  
 485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr  
 500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu  
 515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg  
 530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser  
 545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val  
 565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr  
 580 585 590

Leu Thr

<210> 316  
 <211> 1782  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>

ES 2 579 987 T3

<223> Fab de 4G8 cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 316

gaggtgcaat	tggttgagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggaag	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggtg	gtggtggtg	cacatactac	180
gcagactccg	tgaaggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagggtgg	300
ctgggtaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctggtca	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggcccat	cggtcttccc	cctggcacc	tctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	420
gccctgggct	gcctggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacggtgtc	gtggaactca	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccggctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	540
tccctcagca	gcgtggtgac	cgtgccctcc	agcagcttgg	gcaccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aagttgagcc	caaatcttgt	660
gacaaaaactc	acacatgccc	accgtgccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgcggtggtg	tgagcgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcggtggag	tgcataatgc	caagacaaa	ccgcgggag	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggtct	ccaacaaagc	cctcggcgcc	cccacgaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgcccccat	gccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccaggtca	gcctgtggtg	cctggtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctcccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttctctta	cagcaagctc	accgtggaca	agagcaggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggtg	cggcggaggc	tccggaggcg	gaggttctgg	cggaggtggc	1380
tccgcacctg	cctcaagttc	tacaaagaaa	acacagctac	aactggagca	tttactgctg	1440
gatttacaga	tgattttgaa	tggaattaat	aattacaaga	atcccaaact	caccaggatg	1500
ctcacagcca	agtttgccat	gcccagaag	gccacagaac	tgaaacatct	tcagtgtcta	1560
gaagaagaac	tcaaacctct	ggaggaagtg	ctaaatggcg	ctcaaagcaa	aaactttcac	1620
ttaagaccca	gggacttaat	cagcaatatac	aogtaatag	ttctggaact	aaagggatct	1680
gaaacaacat	tcatgtgtga	atatgctgat	gagacagcaa	ccattgtaga	atttctgaac	1740
5	agatggatta	cctttgccc	aagcatcatc	tcaacactga	ct	1782

<210> 317

<211> 447

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fab de 4G8 cadena pesada-Fc (ojal)

ES 2 579 987 T3

<400> 317

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

ES 2 579 987 T3

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 318  
 <211> 1341  
 <212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

ES 2 579 987 T3

<220>

<223> Fab de 4G8 cadena pesada-Fc (ojal)

<400> 318

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggaaggg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagggtag	300
ctgggtaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctggcca	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggccct	ccgtgttccc	cctggccccc	agcagcaaga	gcaccagcgg	cggcacagcc	420
gctctgggct	gcctgggcaa	ggactacttc	cccgagcccg	tgaccgtgtc	ctggaacagc	480
ggagccctga	cctccggcgt	gcacaccttc	cccgcctgac	tgacaggttc	tggcctgtat	540
agcctgagca	gcgtgggtcac	cgtgccttct	agcagcctgg	gcaccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaacc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aggtggagcc	caagagctgc	660
gacaaaactc	acacatgccc	accgtgccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgcggtgggg	tgacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcggtgggg	tgacataatgc	caagacaaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtgggtca	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggtct	ccaacaaaagc	cctcggcgcc	cccatcgaga	aaacctctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	gggtgtgcacc	ctgcccccat	cccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccaggtca	gcctctcgtg	cgcagtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctcccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttcctcgt	gagcaagctc	accgtggaca	agagcaggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
5	ctctccctgt	ctccgggtaa	a			1341

<210> 319

<211> 600

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fab CH1A1A cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

15 <400> 319



ES 2 579 987 T3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240

ES 2 579 987 T3

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 450 455 460

Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln  
 465 470 475 480

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn  
 485 490 495

ES 2 579 987 T3

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala  
500 505 510

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu  
515 520 525

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn  
530 535 540

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val  
545 550 555 560

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp  
565 570 575

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala  
580 585 590

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
595 600

<210> 320  
<211> 1800  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Fab CH1A1A cadena pesada-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 320  
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg 60  
tctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt cgcacaggct 120  
ccagccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180  
gtggaagagt tcaagggcag agtgacctc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240  
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgcccgtgt actactgccc cagatgggac 300  
ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360  
agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420  
ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480  
tcctggaaca gggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540  
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcaccag 600  
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660  
ccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccctgtc ctgccctga gctgctgggc 720  
ggaccagcgt tgttcctggt cccccaaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780

ES 2 579 987 T3

cccgaagtga cctgctggtt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840  
 tgggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaaagacca agccccggga ggaacagtac 900  
 aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960  
 aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgctg ccccatcga gaaaaccatc 1020  
 agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca ccctgcccc ctgcagagat 1080  
 gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctgttca agggcttcta cccagcgat 1140  
 atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct 1200  
 gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260  
 tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcagc aggcctgca caaccactac 1320  
 acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aagtccggag gcggaggctc cggcggcggg 1380  
 ggttctggcg gaggtggctc cgcacctgcc tcaagttcta caaagaaaac acagctacaa 1440  
 ctggagcatt tactgctgga tttacagatg attttgaatg gaattaataa ttacaagaat 1500  
 cccaaactca ccaggatgct cacagccaag tttgccatgc ccaagaaggc cacagaactg 1560  
 aaacatcttc agtgtctaga agaagaactc aaacctctgg aggaagtgct aaatggcgct 1620  
 caaagcaaaa actttcactt aagaccagc gacttaatca gcaatatcaa cgtaatagtt 1680  
 ctggaactaa agggatctga aacaacattc atgtgtgaat atgctgatga gacagcaacc 1740  
 attgtagaat ttctgaacag atggattacc tttgcccaaa gcatcatctc aacctgact 1800

<210> 321  
 <211> 451  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab CH1A1A cadena pesada-Fc (ojal)

10

<400> 321  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr



ES 2 579 987 T3

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys  
 450

<210> 322  
 <211> 1353  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fab CH1A1A cadena pesada-Fc (ojal)

10 <400> 322  
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gaggctcggca tgaactgggt ccgacaggct 120  
 ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga gccacactac 180  
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240  
 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300  
 ttgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360  
 agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420  
 ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480  
 tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

ES 2 579 987 T3

```

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcaccag      600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag      660
cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgccctga gctgctgggc      720
ggaccagcag tgttctgtt cccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc      780
cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat      840
tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaaacca agccccggga ggaacagtac      900
aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc      960
aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gcctgcctg ccccatoga gaaaaccatc     1020
agcaaggcca agggccagcc cagagaacct caggtgtgca ccctgcccc cagcagagat     1080
gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta cccagcgat     1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct     1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccg     1260
tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac     1320
accagaagt ccctgagcct gagccccggc aag                                     1353

```

<210> 323  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera CH1A1A

<400> 323

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35           40           45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85           90           95

```

ES 2 579 987 T3

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 324  
 <211> 645  
 <212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cadena ligera CH1A1A

10 <400> 324

gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtc ggctgtgggt acgtatggtg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctggtg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645



## REIVINDICACIONES

- 5 1. Polipéptido interleuquina 2 (IL-2) mutante que comprende tres mutaciones de aminoácido que anulan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido se encuentran en las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana (SEC ID nº 1).
- 10 2. Polipéptido interleuquina-2 mutante según la reivindicación 1, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido son sustituciones de aminoácido seleccionadas de entre el grupo de F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K.
- 15 3. Polipéptido interleuquina-2 mutante según la reivindicación 1 o 2, en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido L72G.
- 20 4. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido F42A.
- 5 5. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido Y45A.
- 25 6. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido son las mutaciones de aminoácido F42A, Y45A y L72G.
- 30 7. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además una mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana.
- 35 8. Polipéptido interleuquina-2 mutante según la reivindicación 7, en el que dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K y T3P.
- 40 9. Polipéptido interleuquina-2 mutante según la reivindicación 7 o 8, en el que dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es la sustitución de aminoácido T3A.
10. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicho polipéptido IL-2 mutante es una molécula de IL-2 humana.
11. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia SEC ID nº 19.
- 45 12. Polipéptido interleuquina-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicho polipéptido IL-2 mutante se encuentra unido a una fracción no IL-2.
- 50 13. Inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y una fracción de unión a antígeno.
- 55 14. Inmunoconjugado según la reivindicación 13, en el que dicha fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.
15. Inmunoconjugado según la reivindicación 13, en el que dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv.
- 60 16. Inmunoconjugado según la reivindicación 13, en el que dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina, particularmente una molécula de IgG.
17. Inmunoconjugado según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en el que dicha fracción de unión a antígeno presenta como diana un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un medio de célula tumoral.
18. Polinucleótido aislado codificante del polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado según cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 17.

19. Célula huésped que comprende el polinucleótido según la reivindicación 18.

5 20. Método para producir un polipéptido IL-2 mutante que comprende tres mutaciones de aminoácido que anulan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, cada uno en comparación con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje, en el que dichas tres mutaciones de aminoácido se encuentran en las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana (SEC ID nº 1) o un inmunoconjugado de los mismos,  
10 que comprende cultivar la célula huésped según la reivindicación 19 bajo condiciones adecuadas para la expresión del polipéptido IL-2 mutante o el inmunoconjugado.

15 21. Composición farmacéutica que comprende el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 y un portador farmacéuticamente aceptable.

22. Polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para la utilización en el tratamiento de una enfermedad en un paciente en necesidad del mismo.

20 23. Polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado según la reivindicación 22 para la utilización en el tratamiento de una enfermedad, en el que dicha enfermedad es el cáncer.

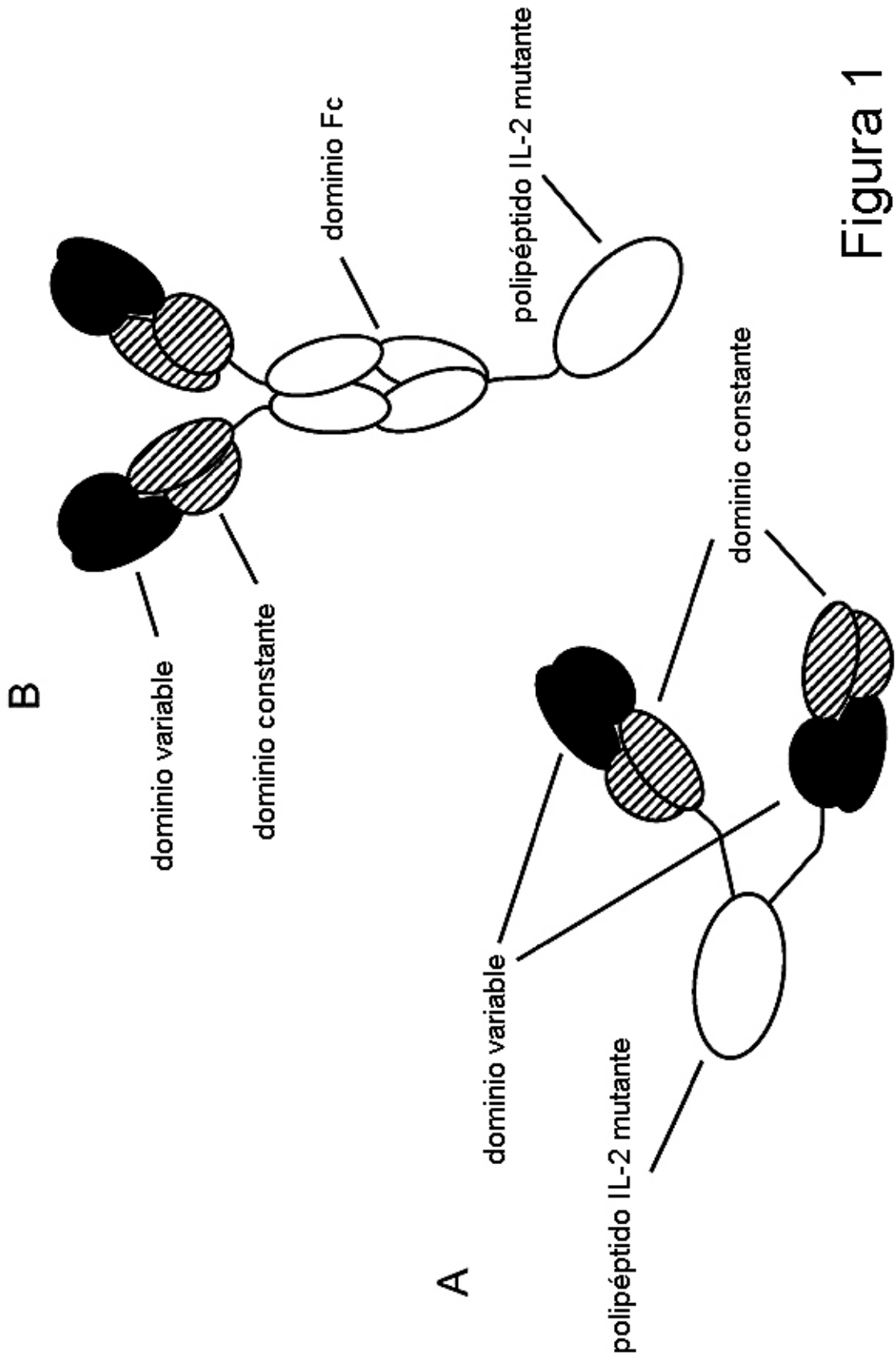


Figura 1

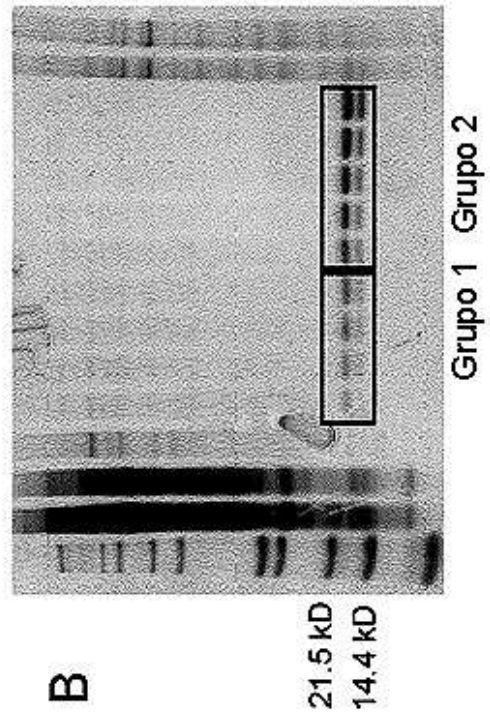
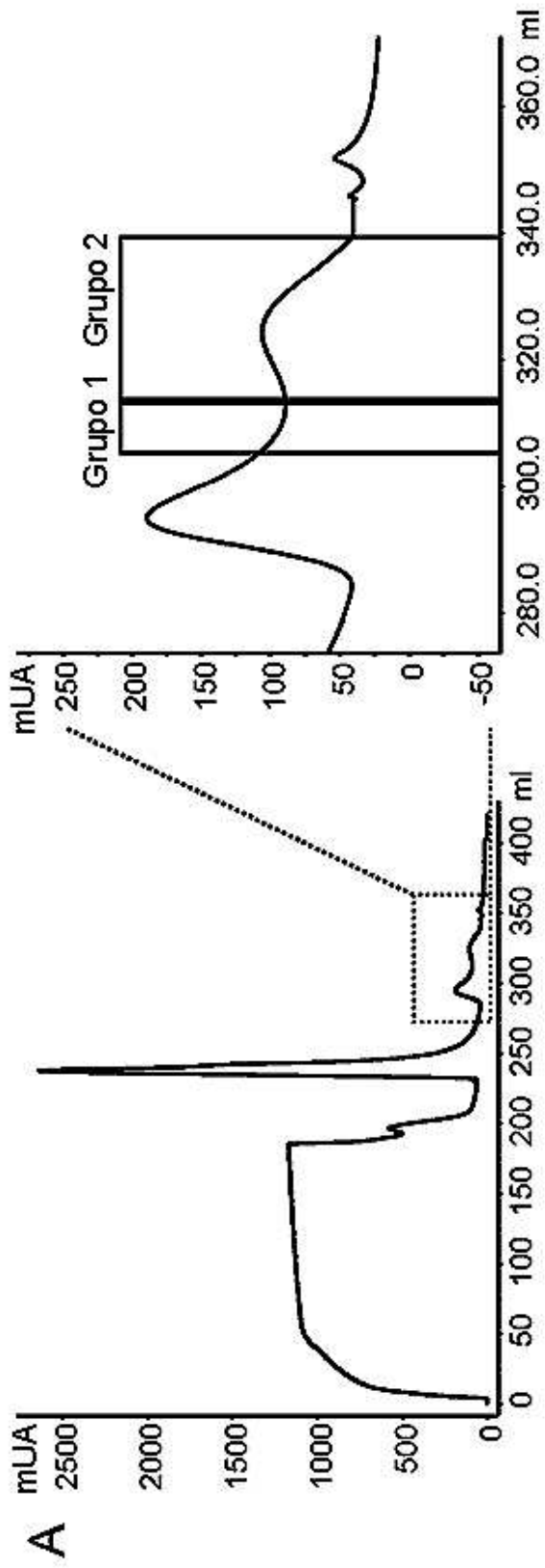
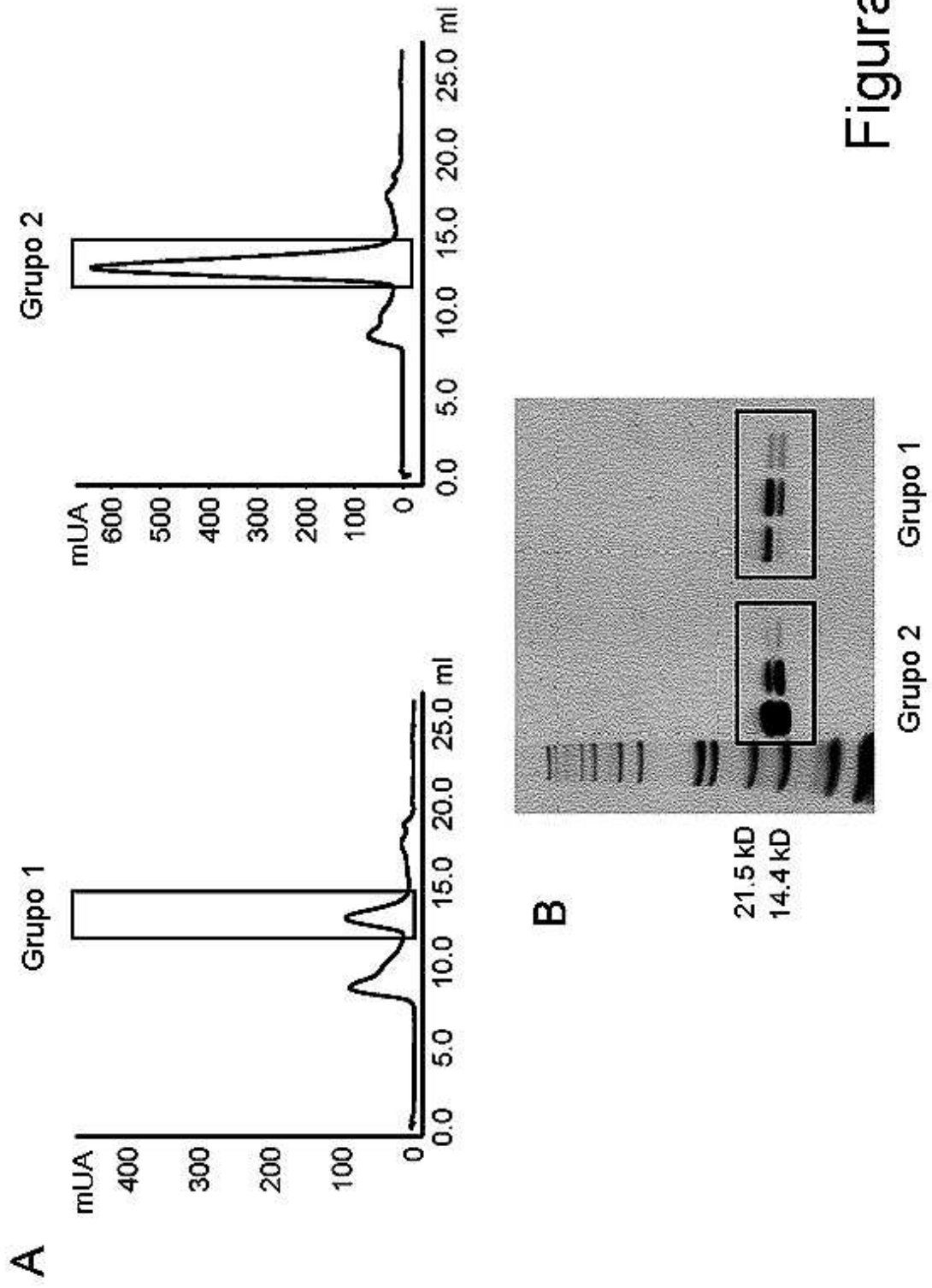


Figura 2



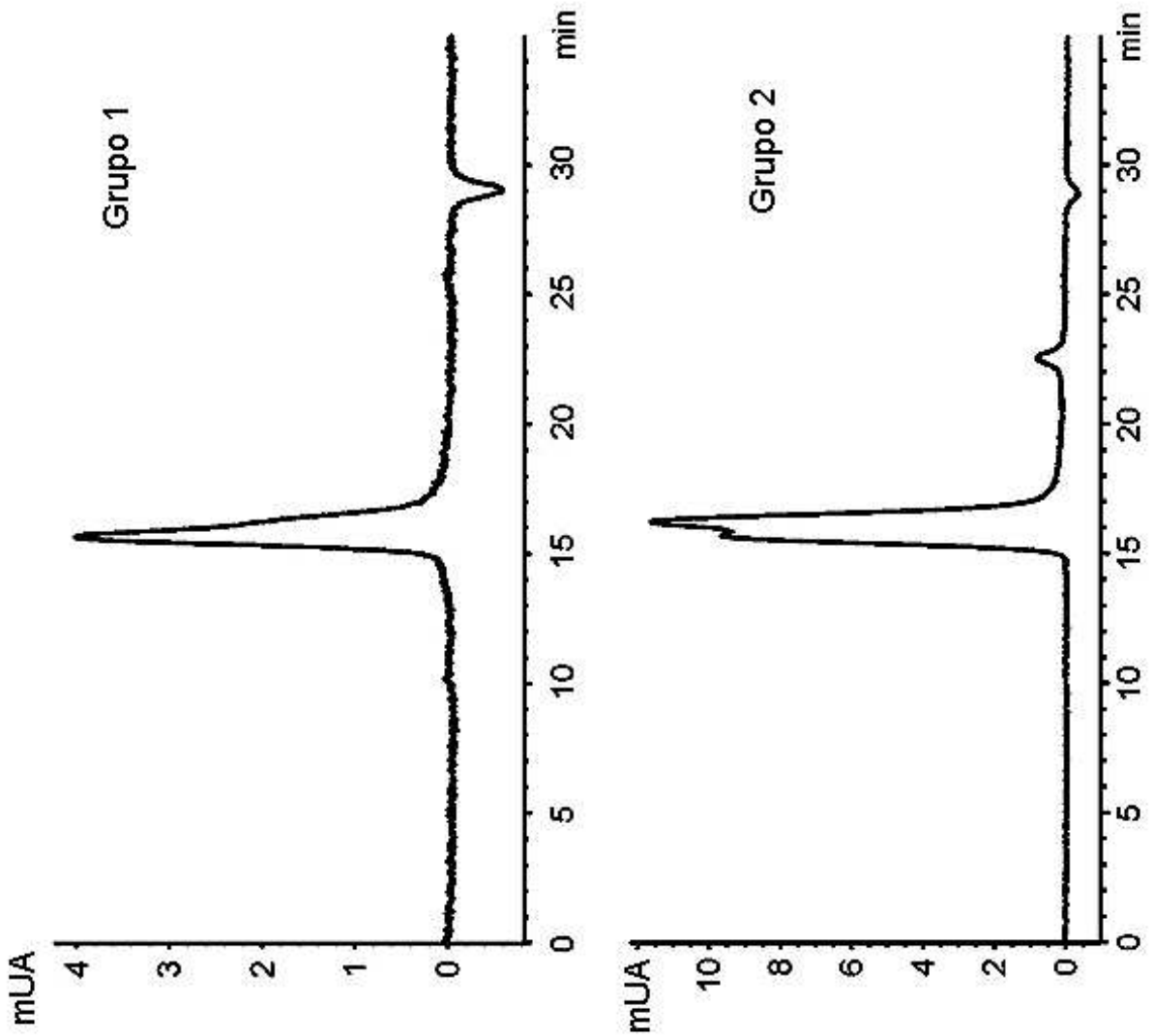


Figura 4

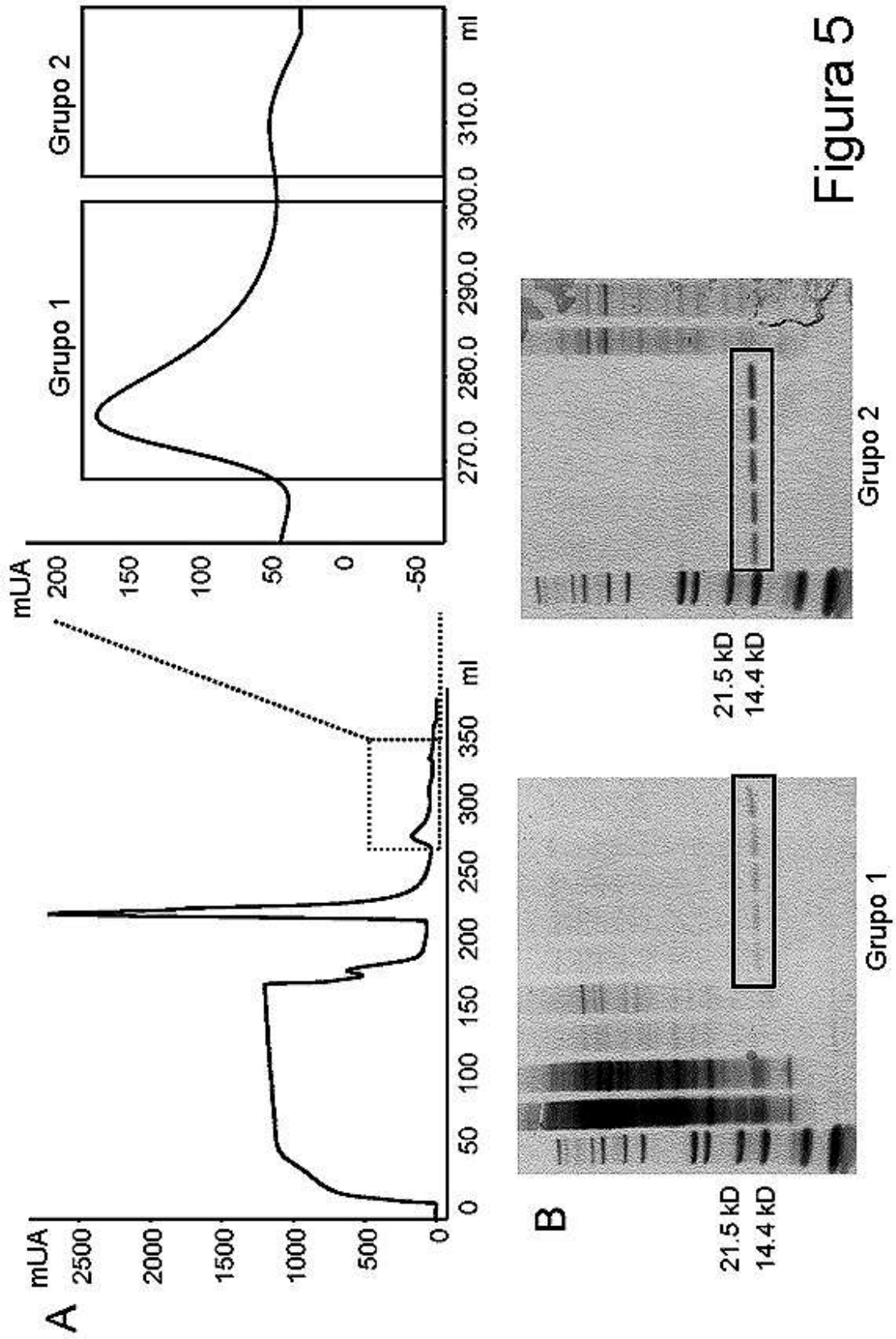


Figura 5

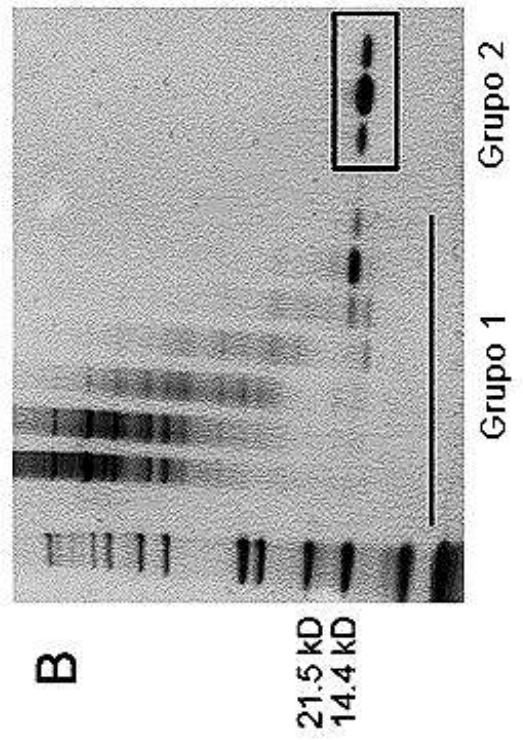
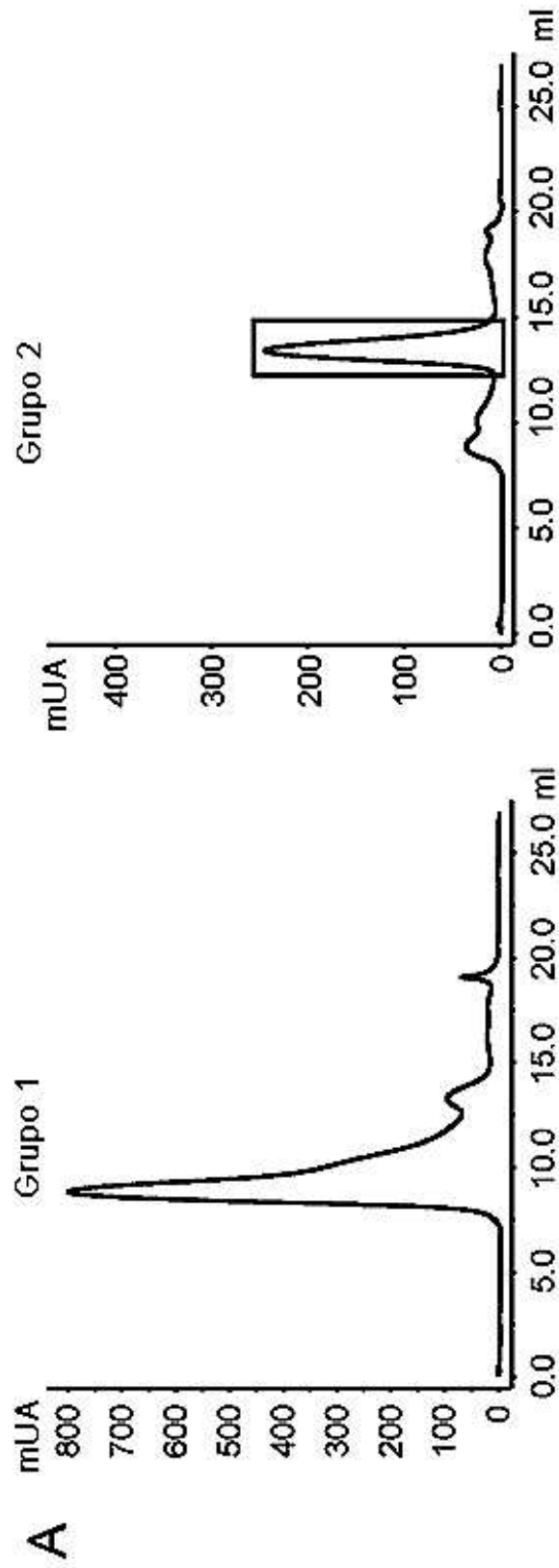
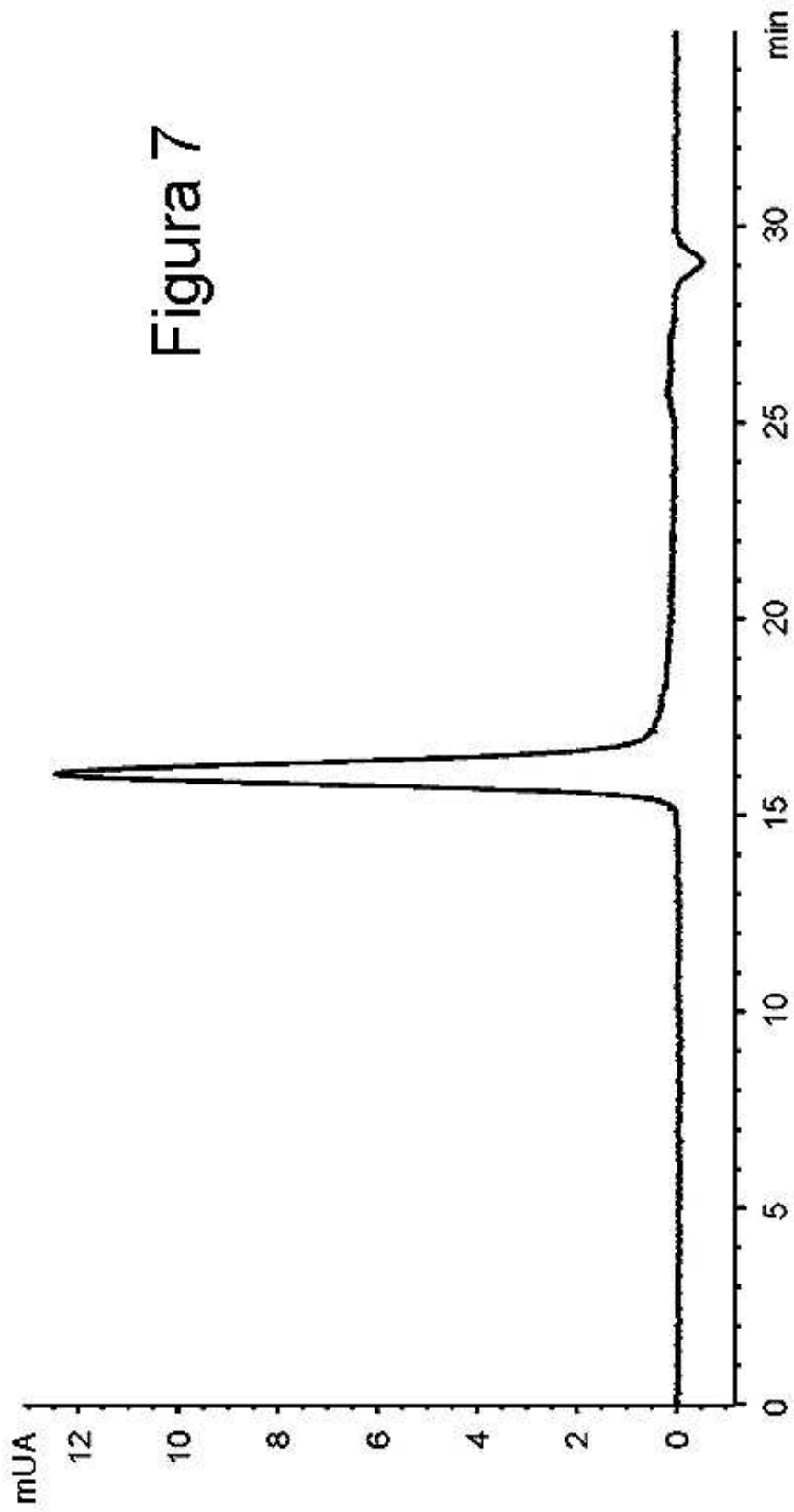


Figura 6



Figura 7



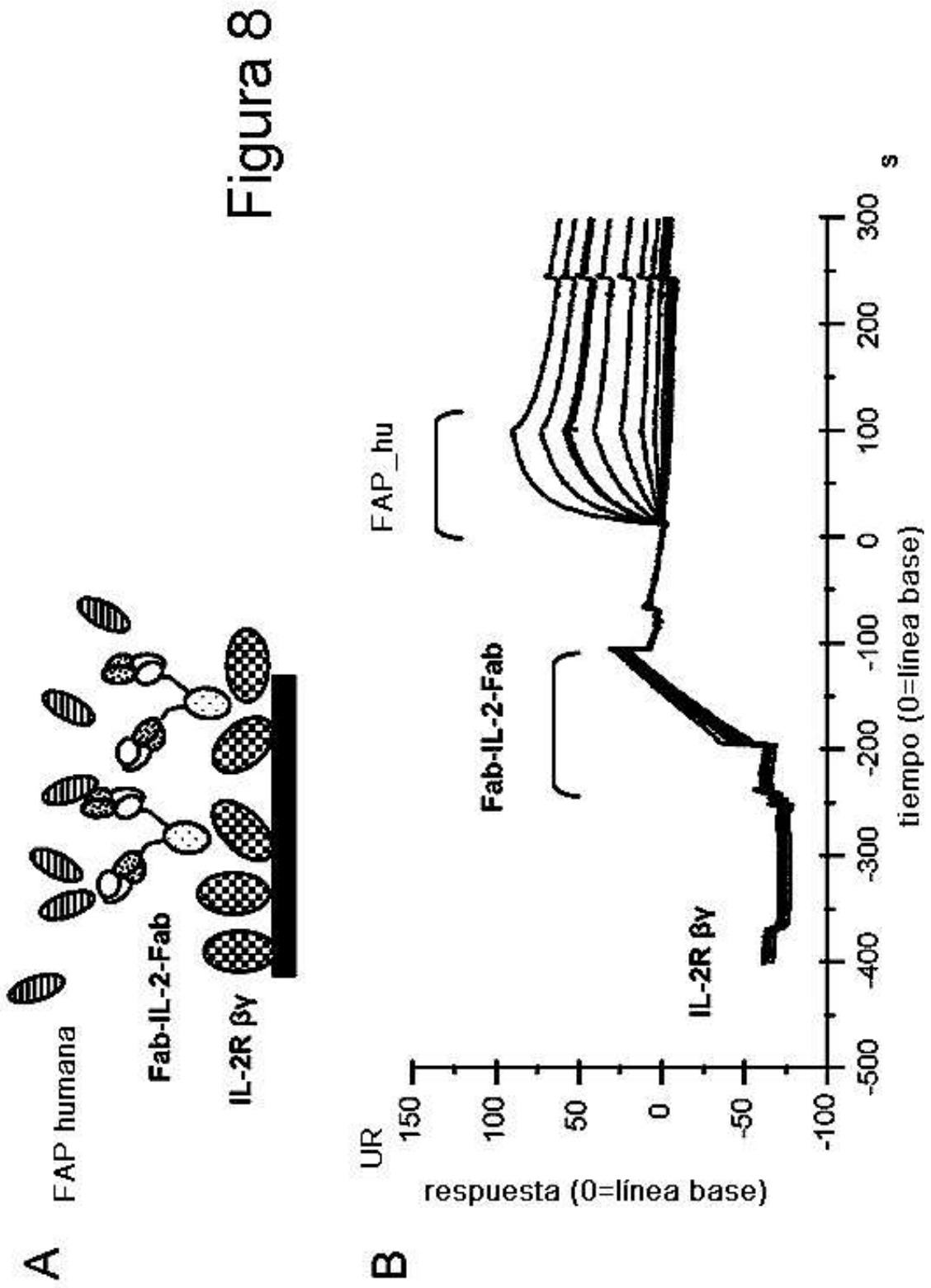


Figura 8

Figura 9

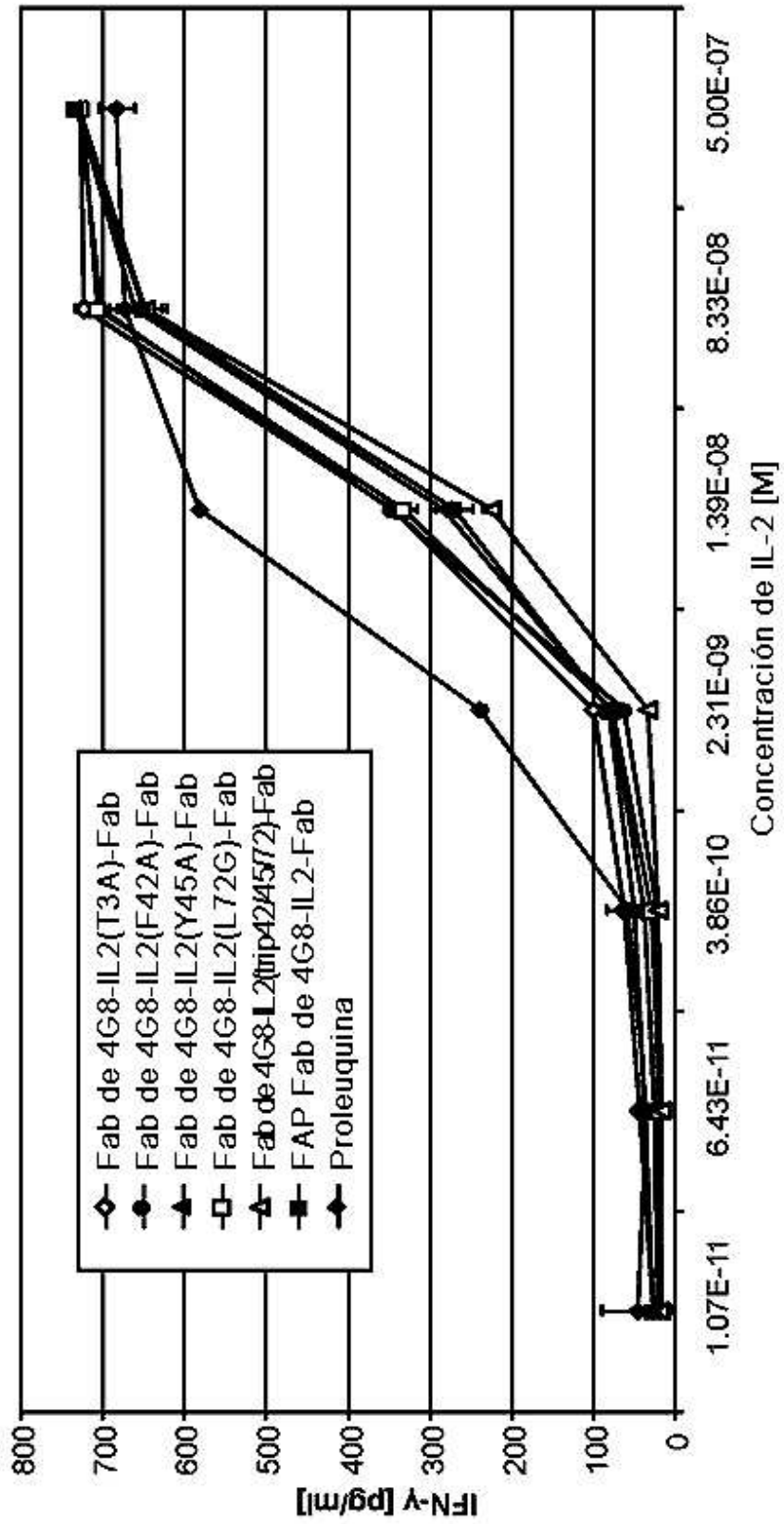


Figura 10

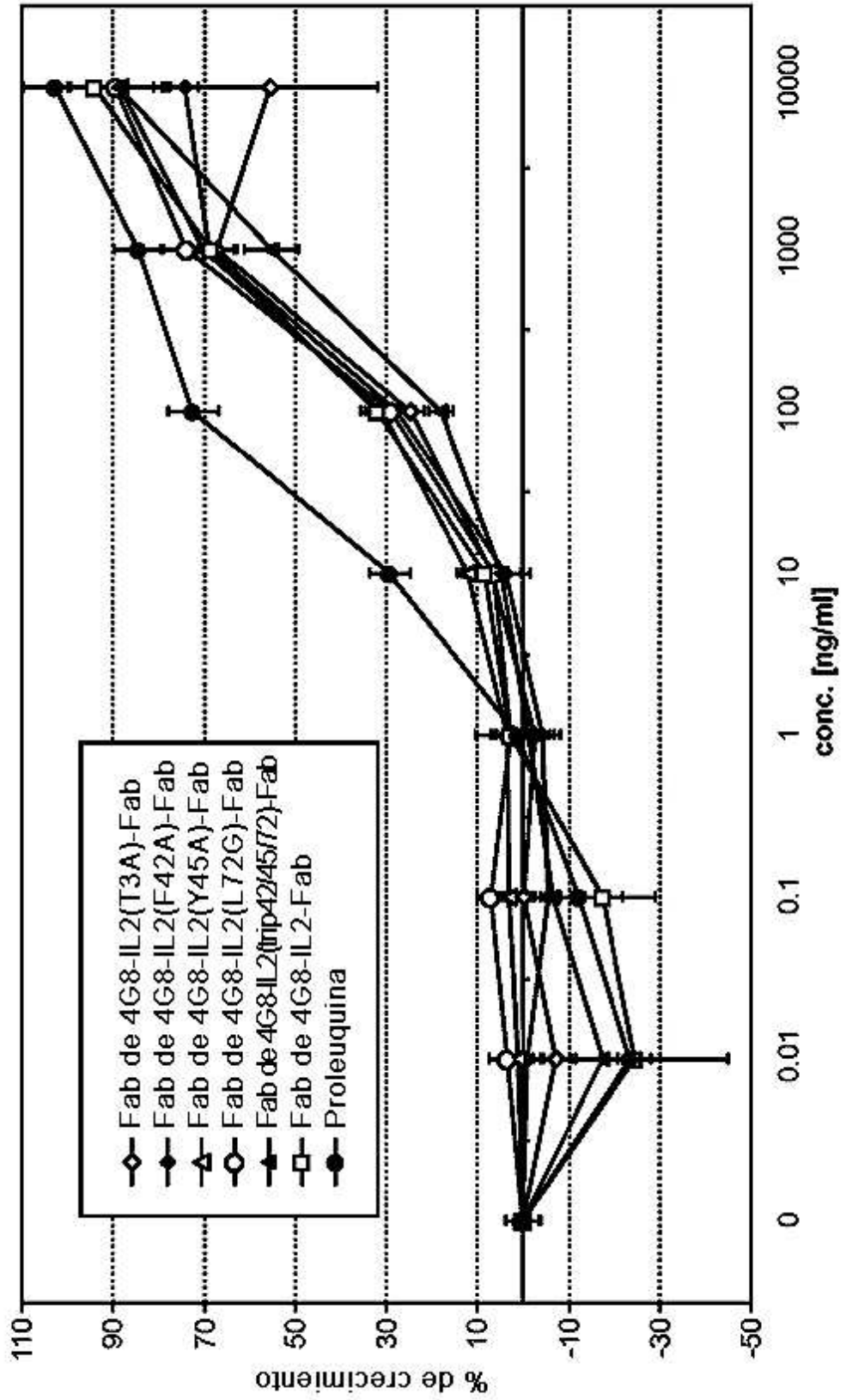
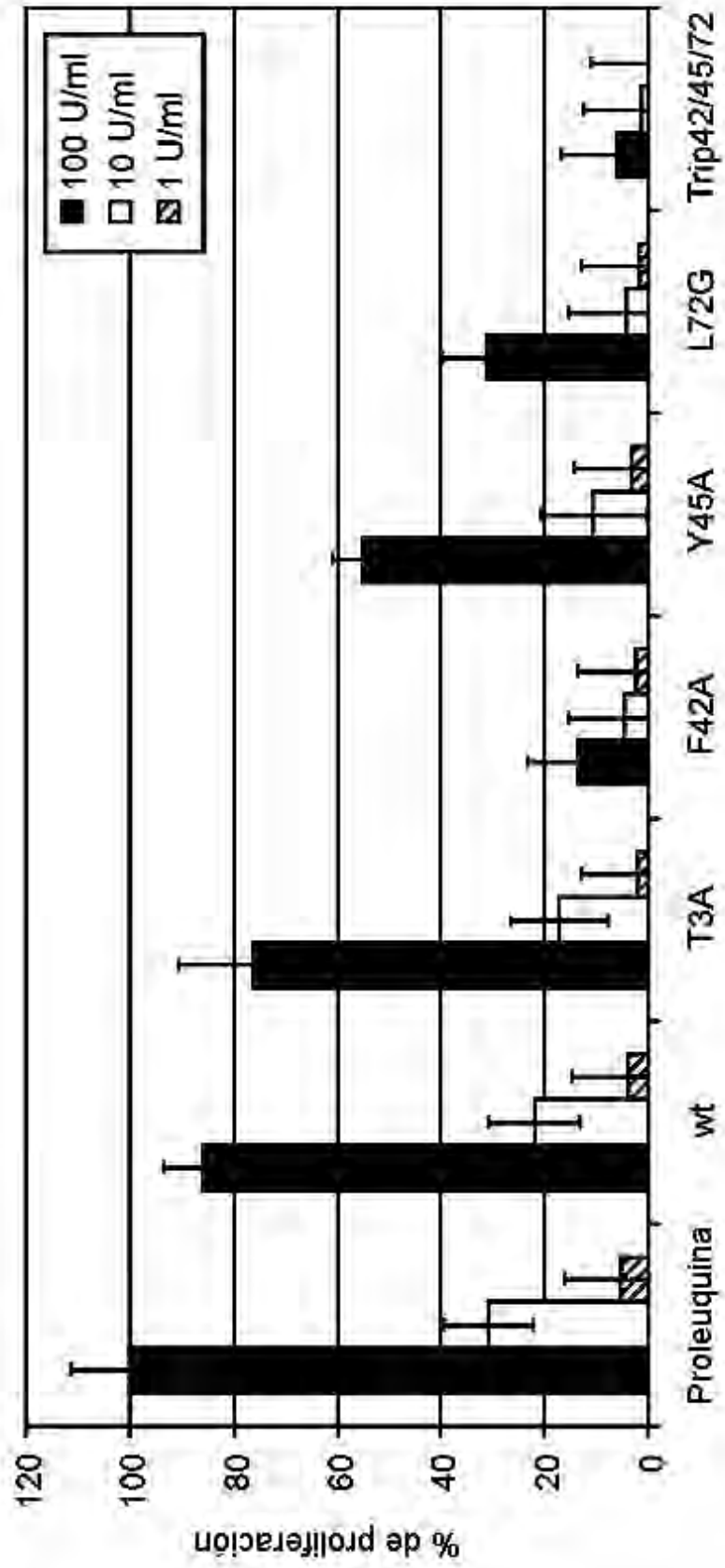


Figura 11



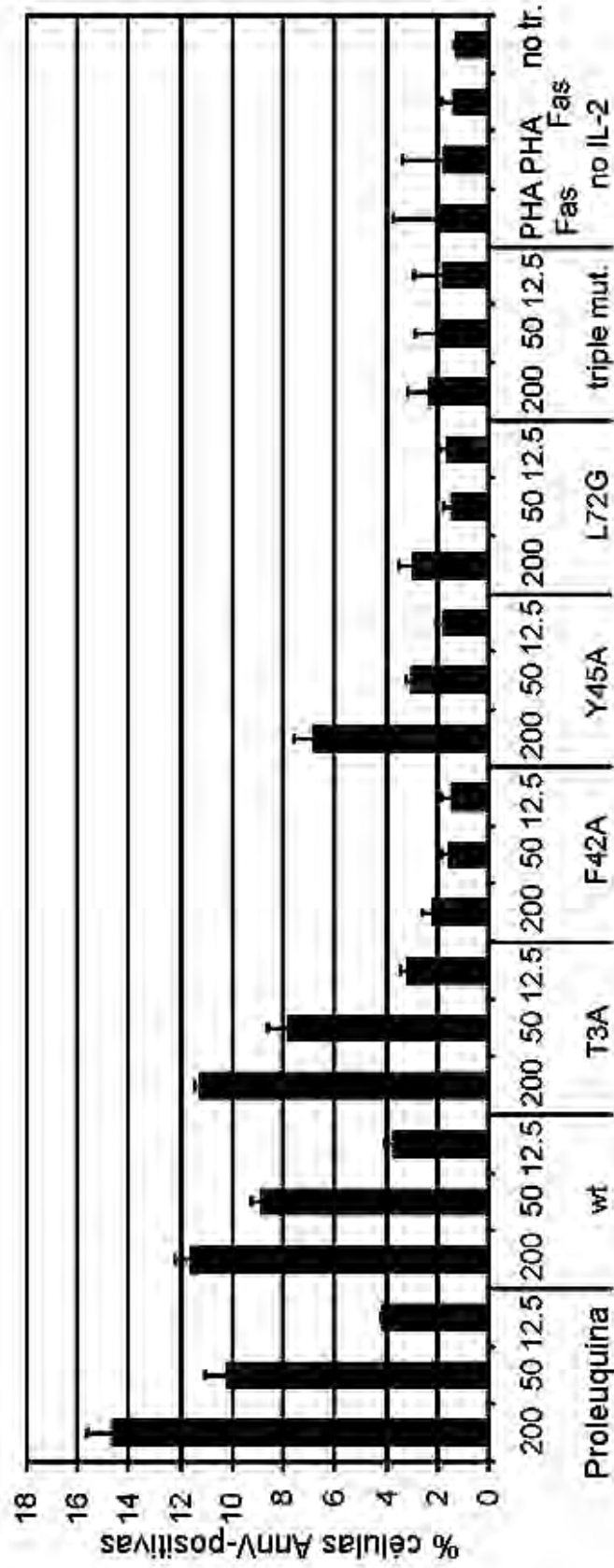
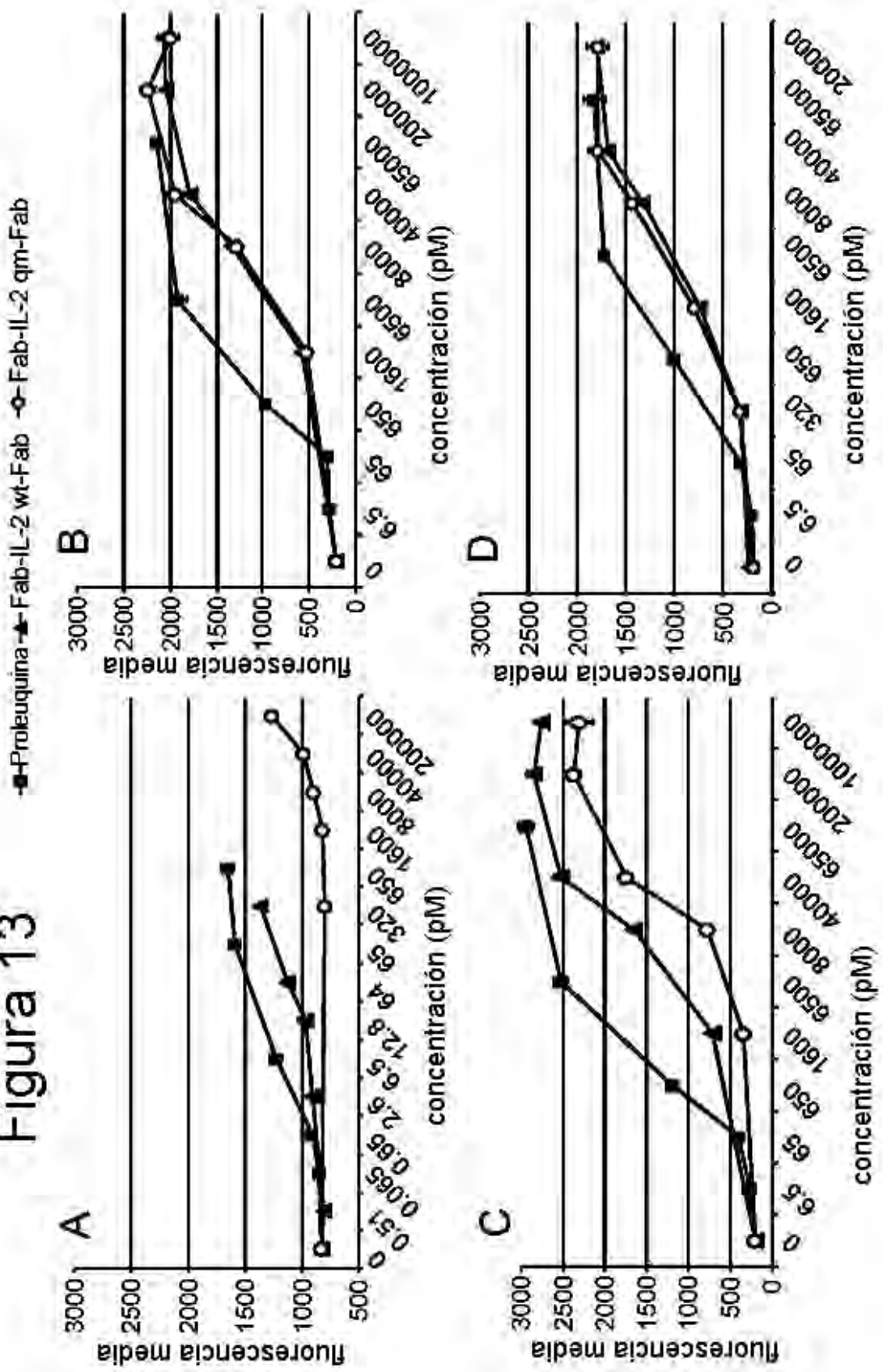


Figura 12

Figura 13



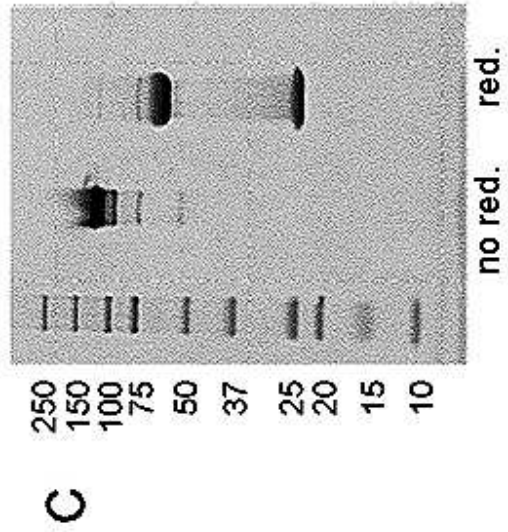
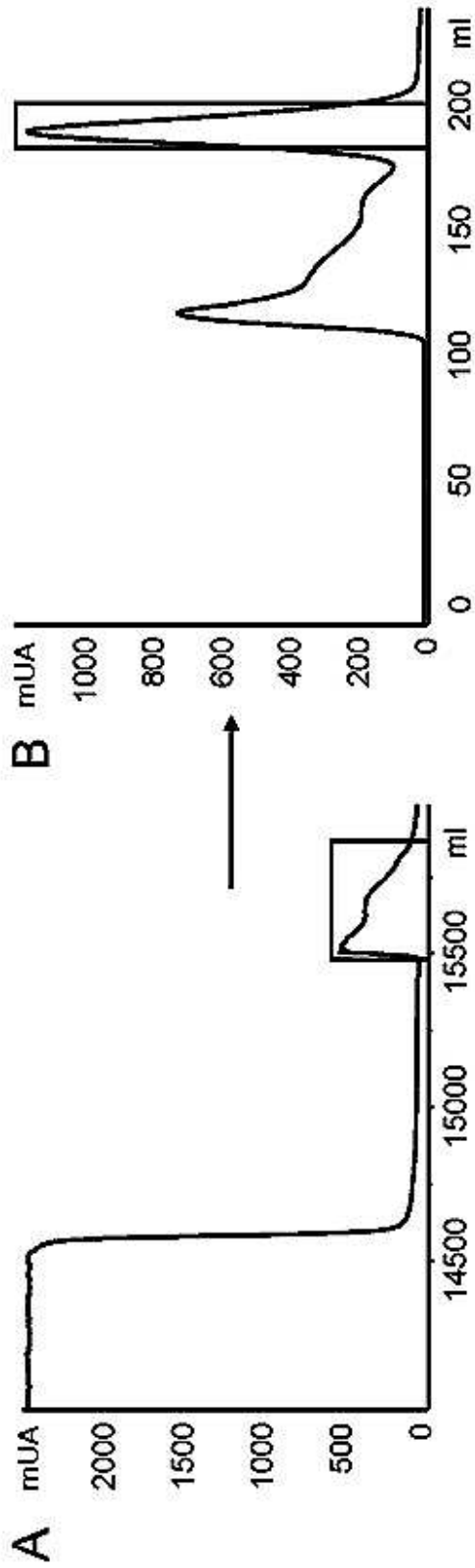


Figura 14



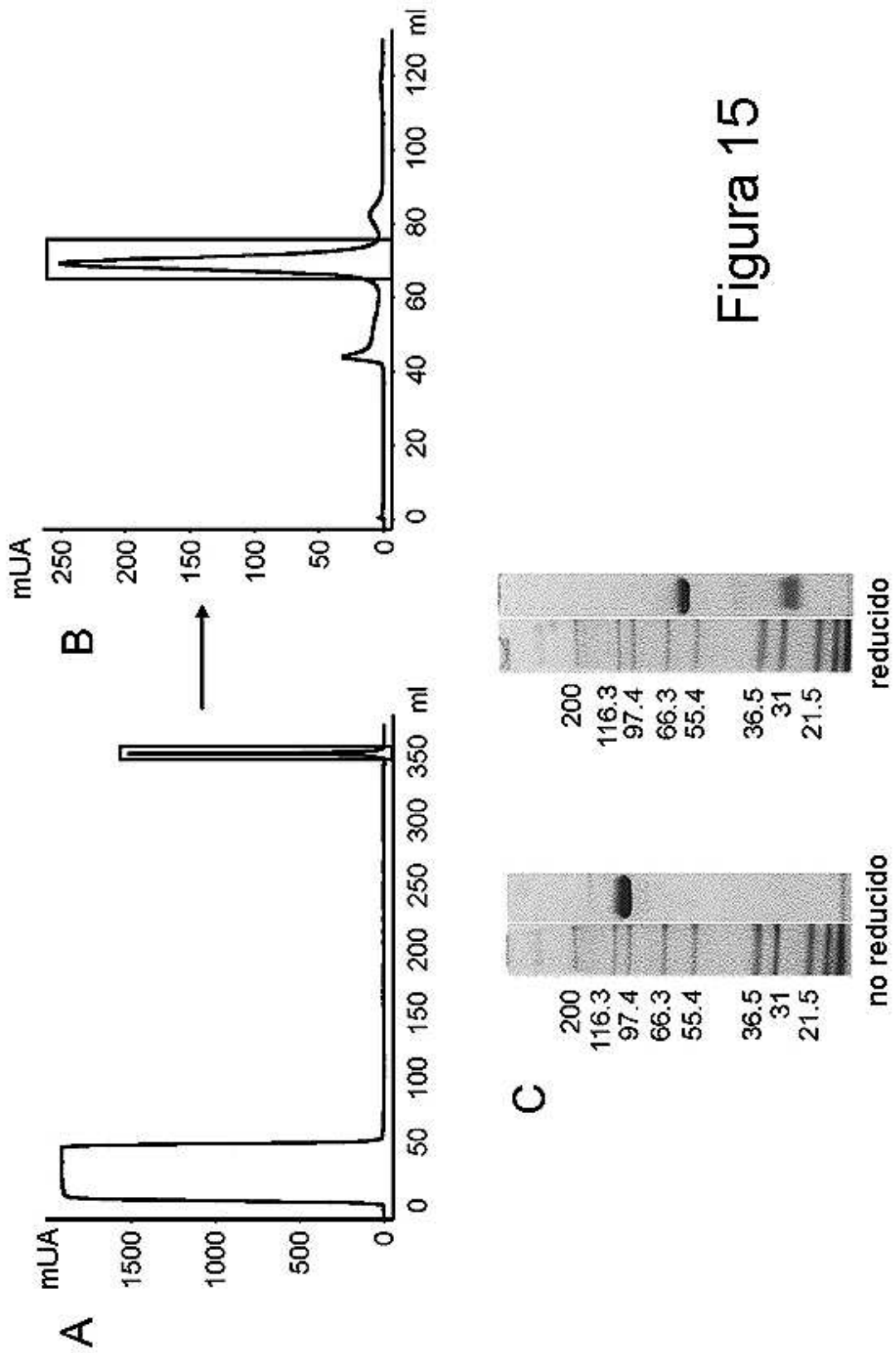


Figura 15

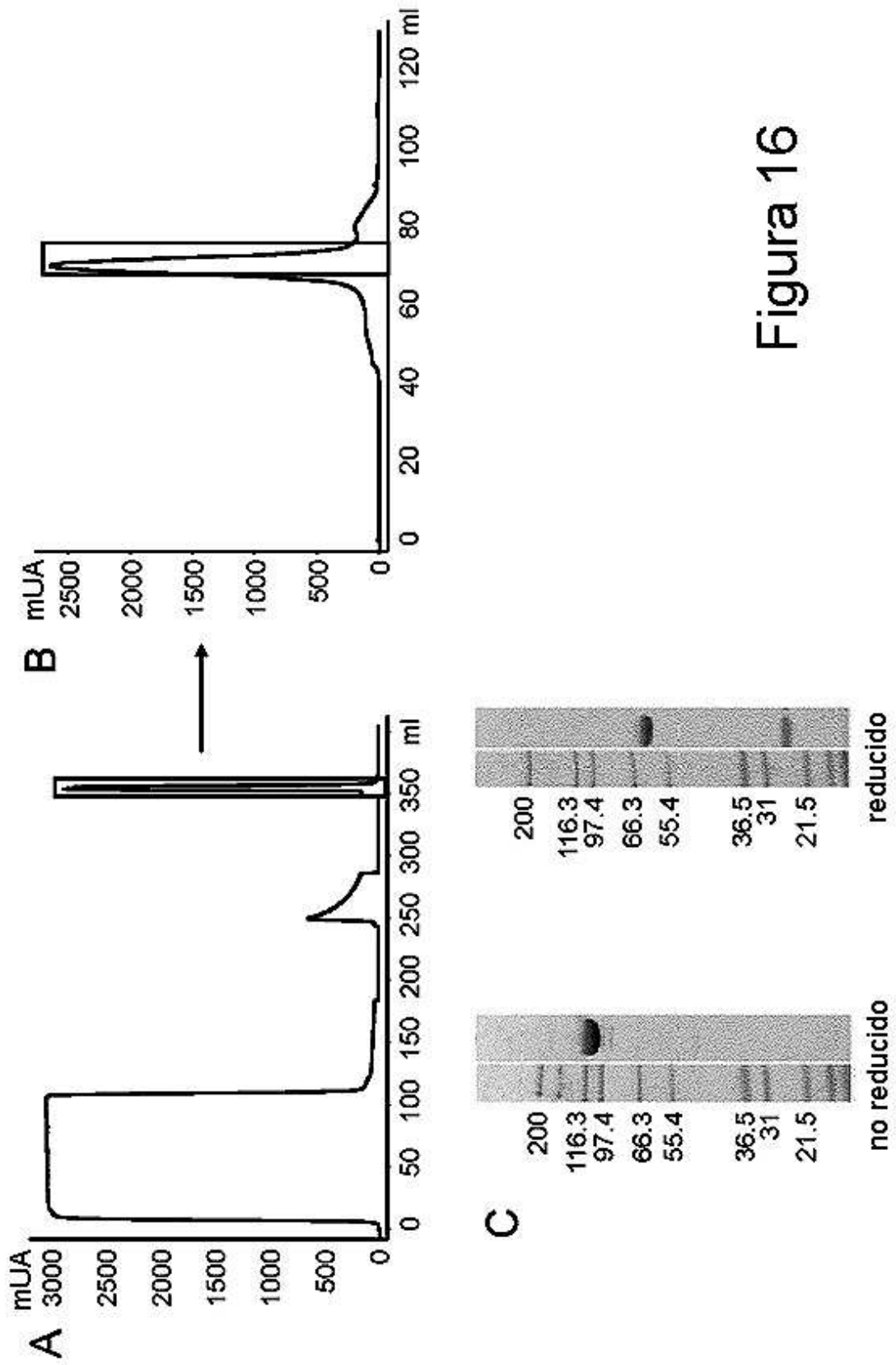


Figura 16

Figura 17

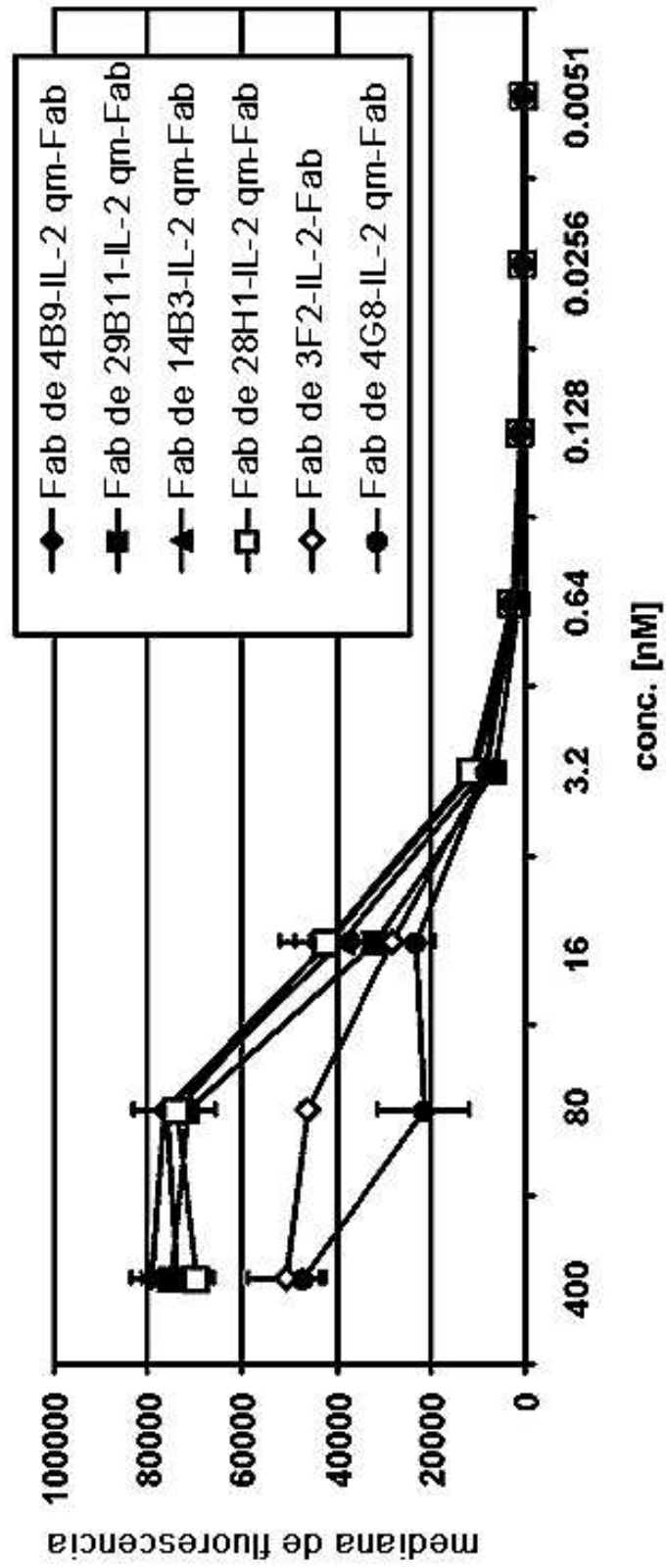
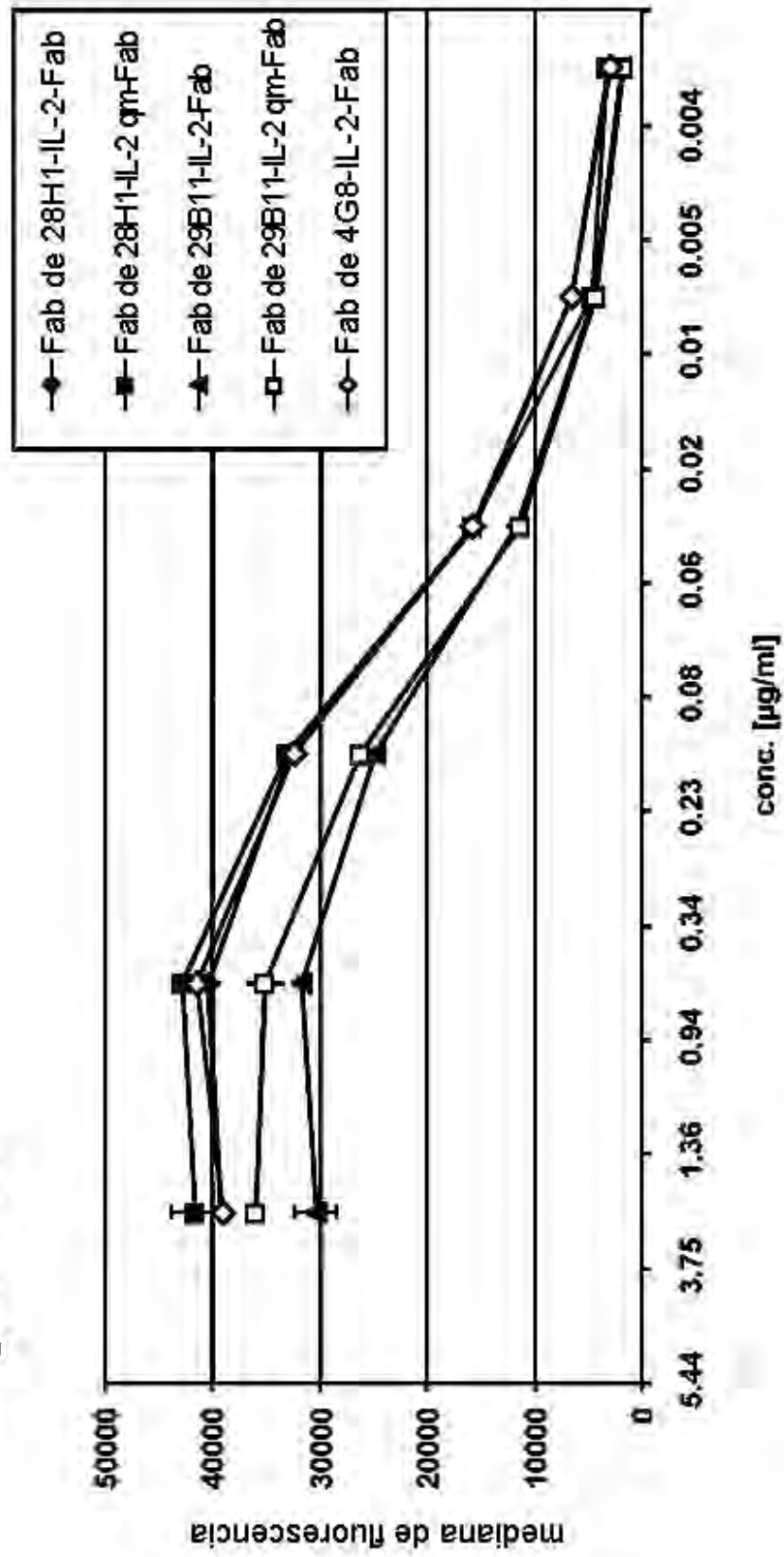


Figura 18



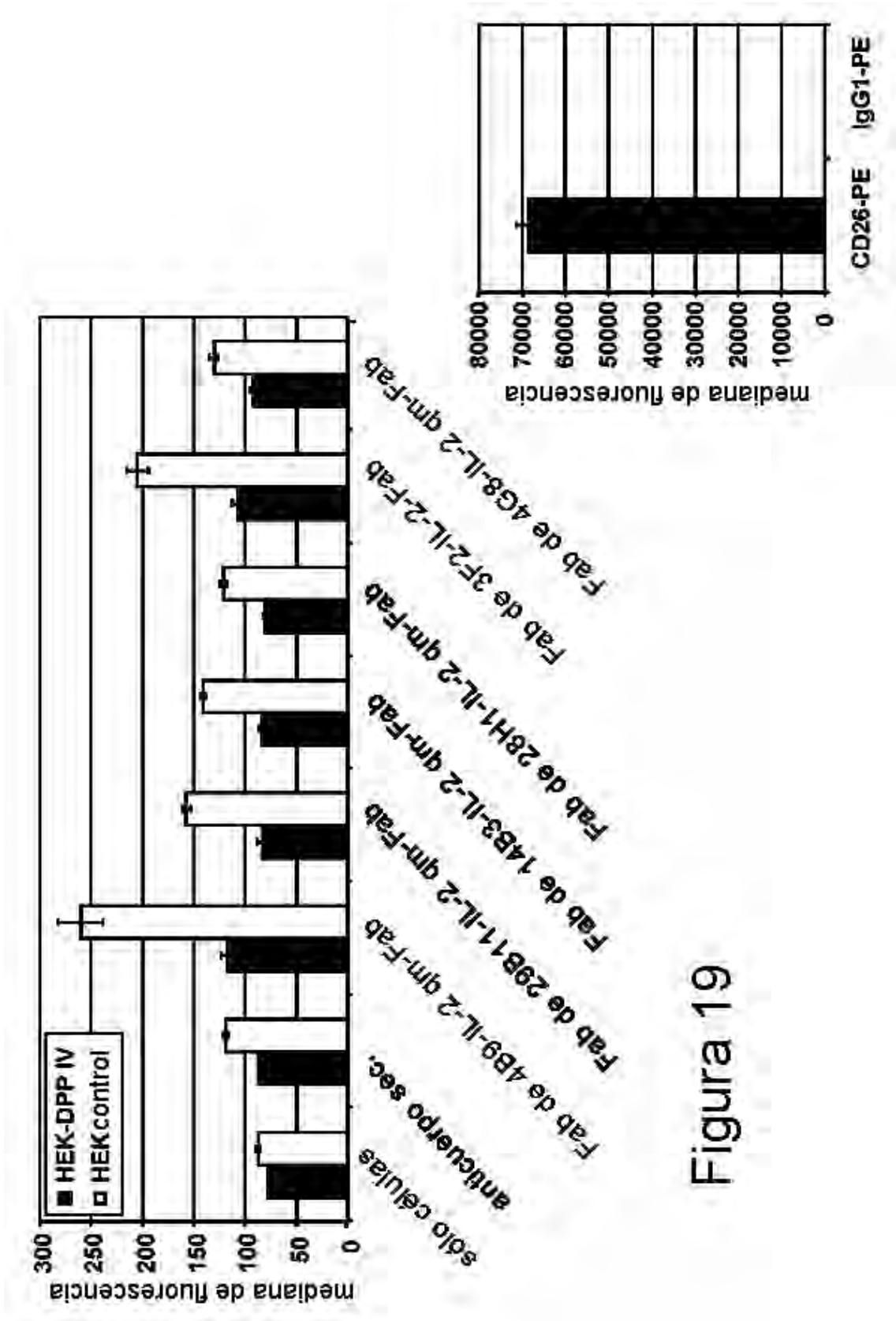
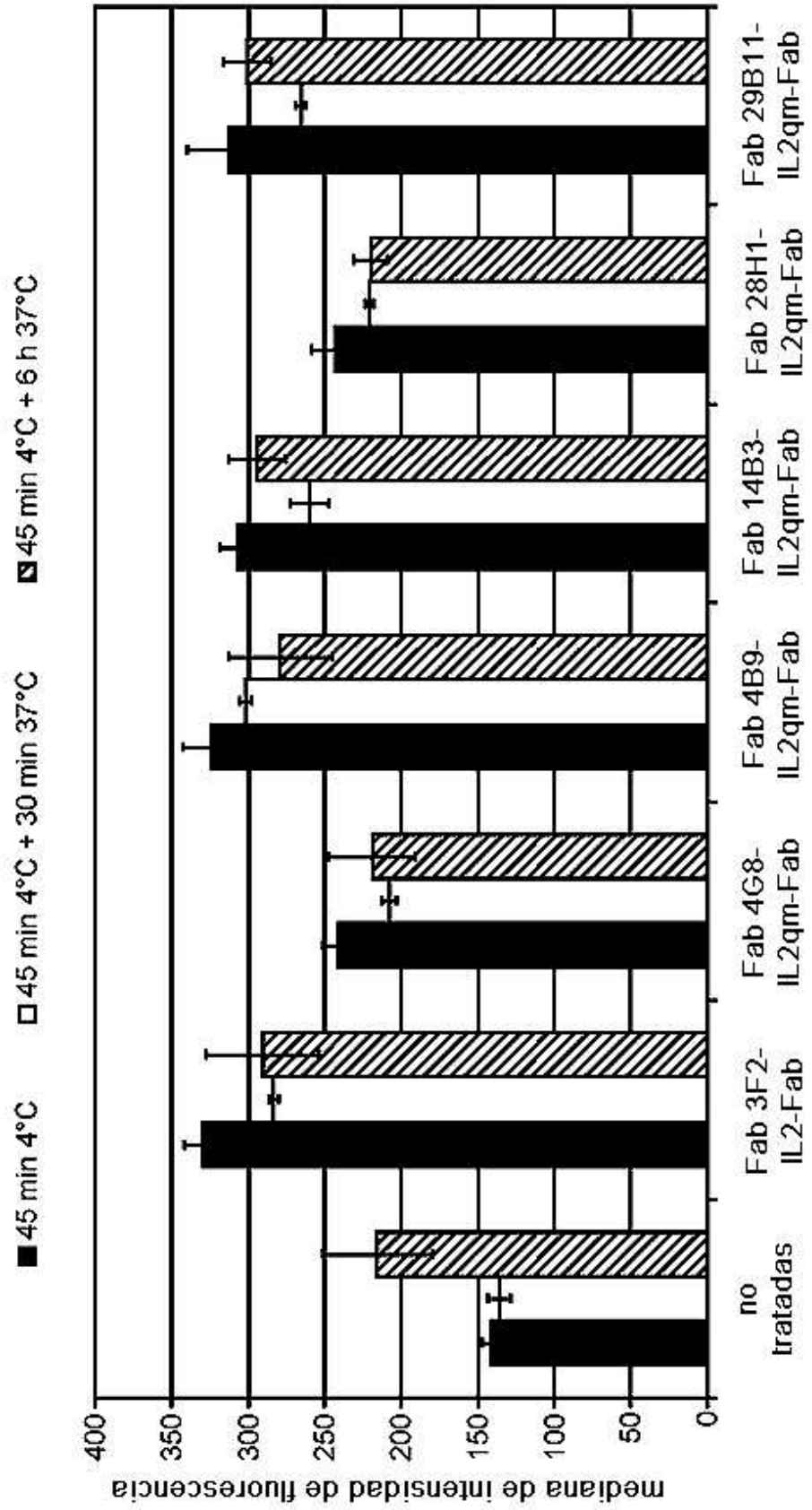


Figura 19

Figura 20



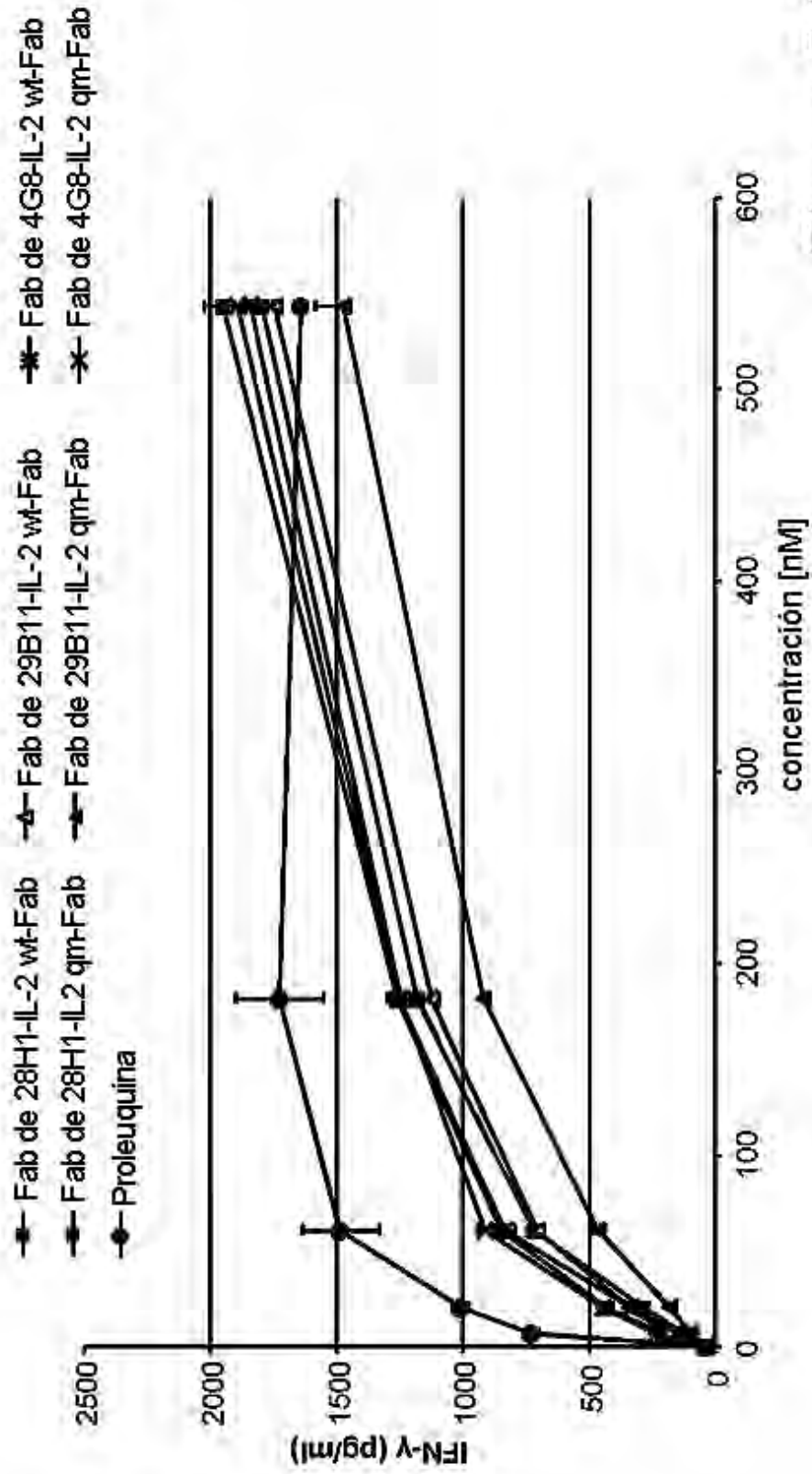


Figura 21

Figura 22

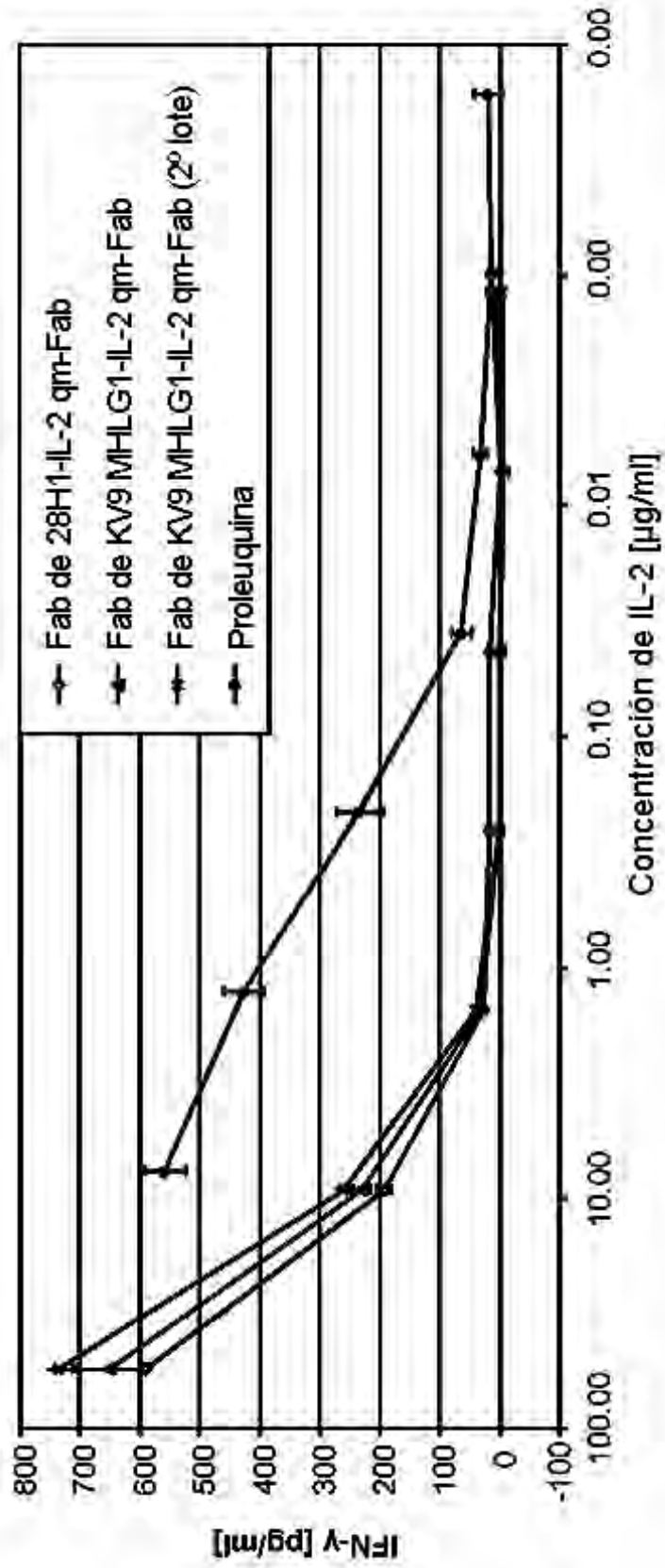
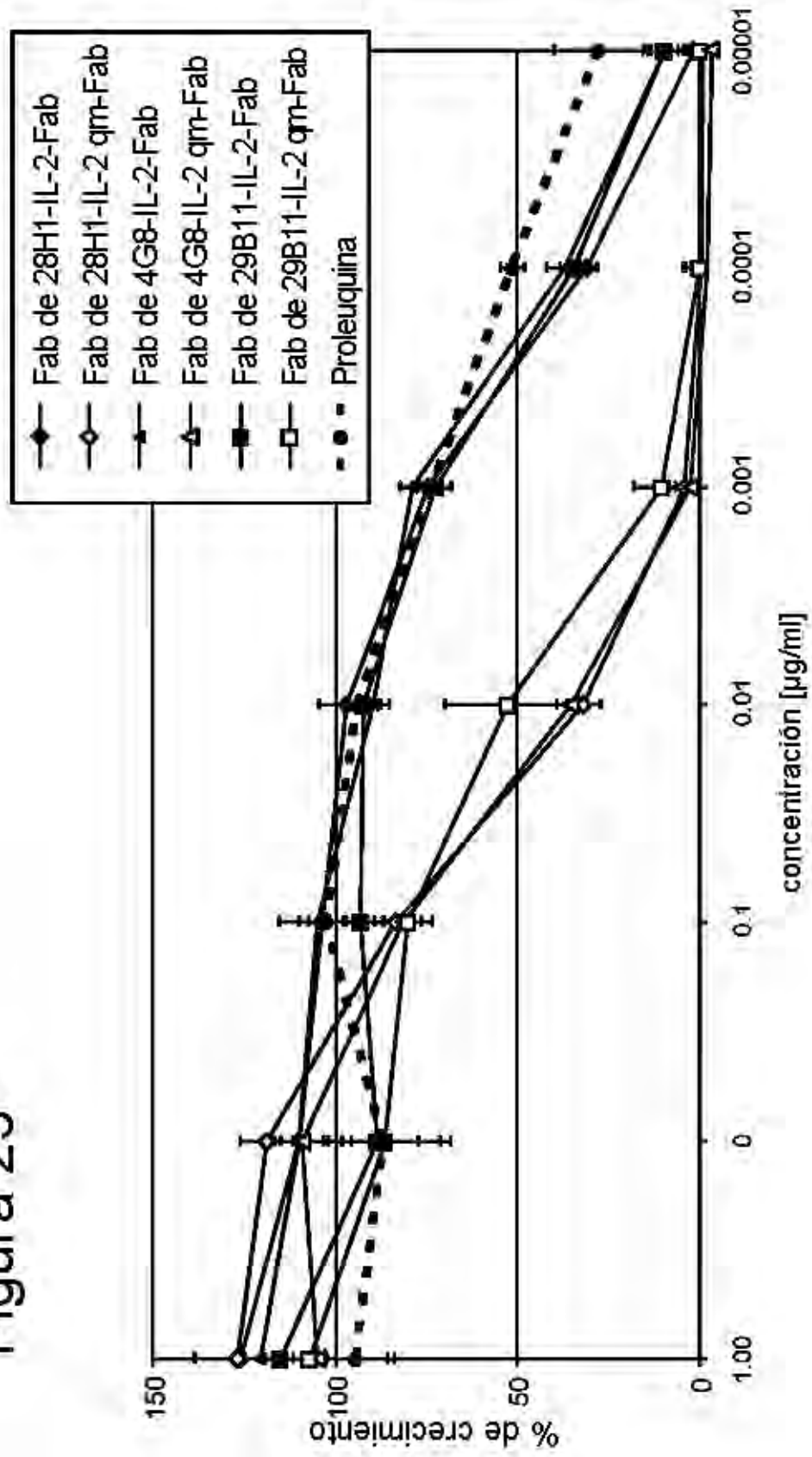




Figura 23



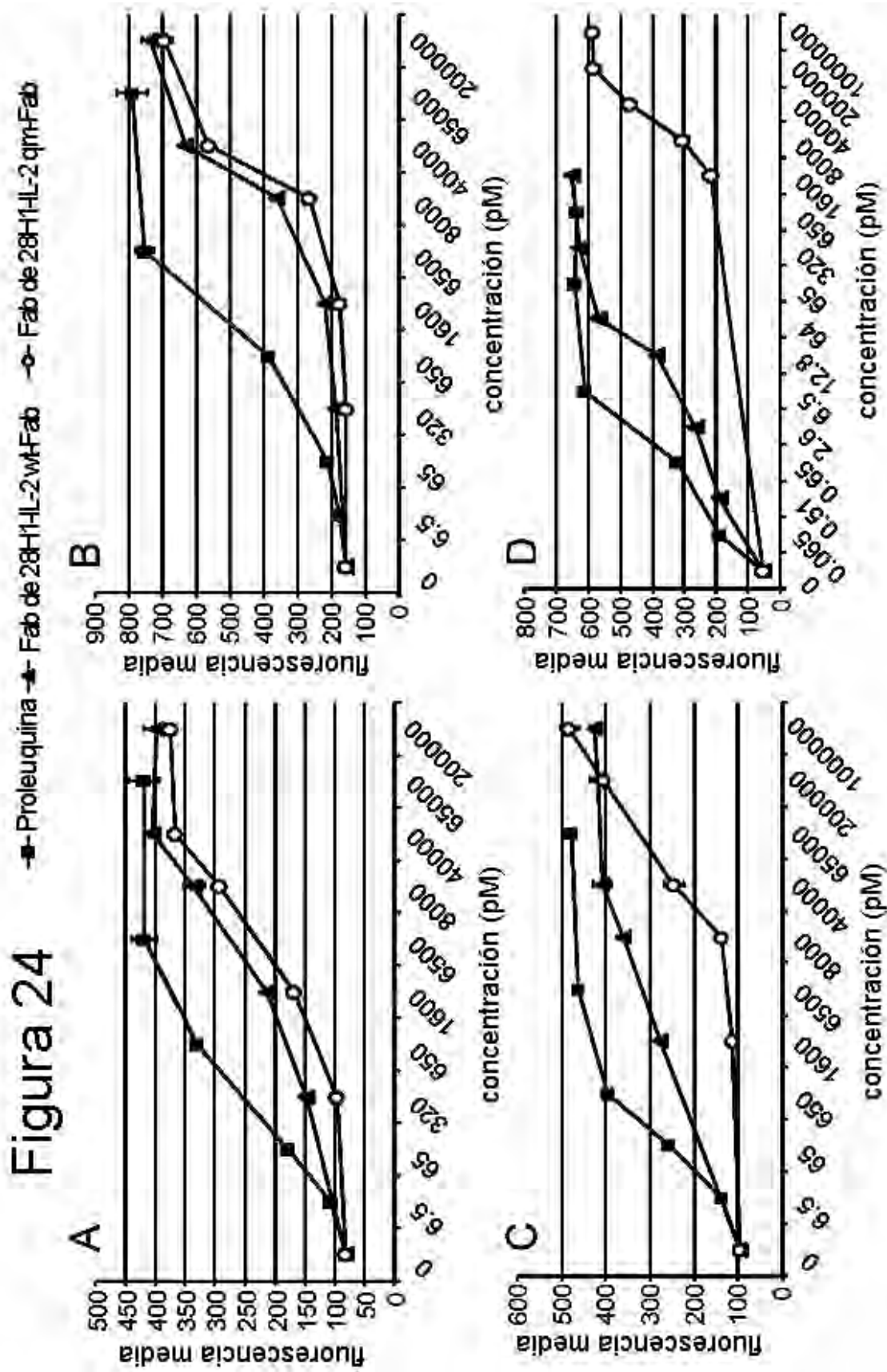


Figura 25

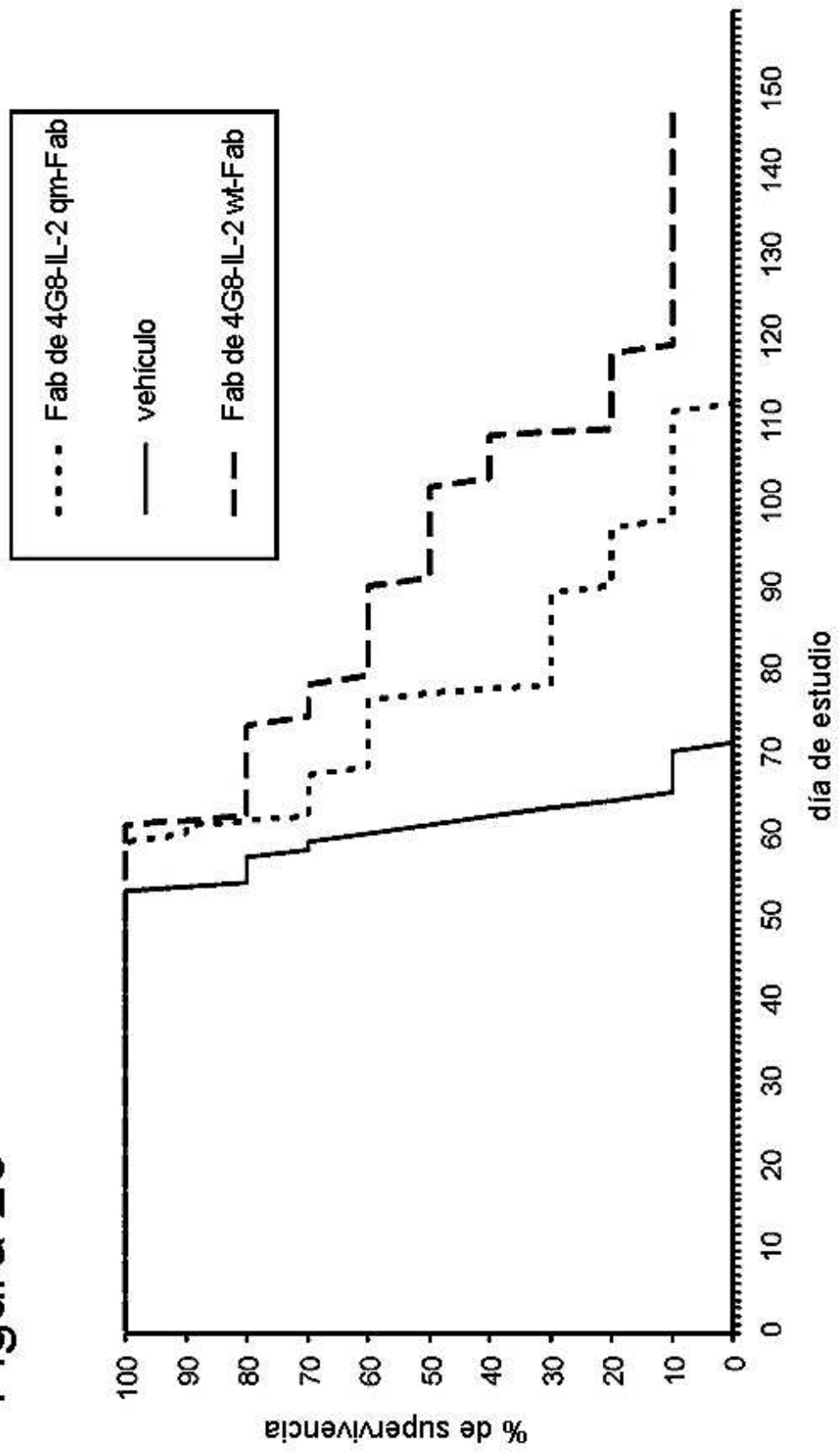


Figura 26

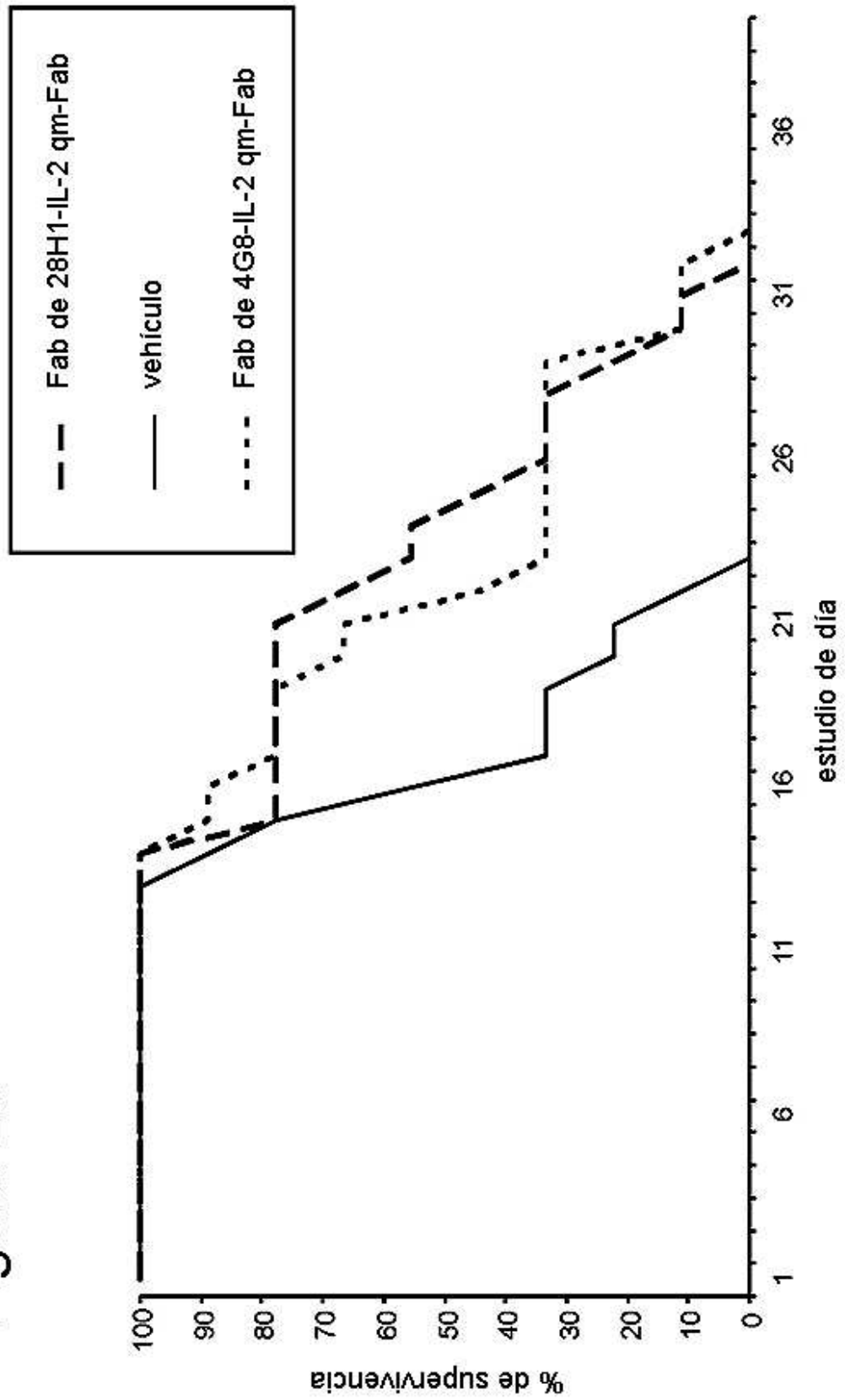
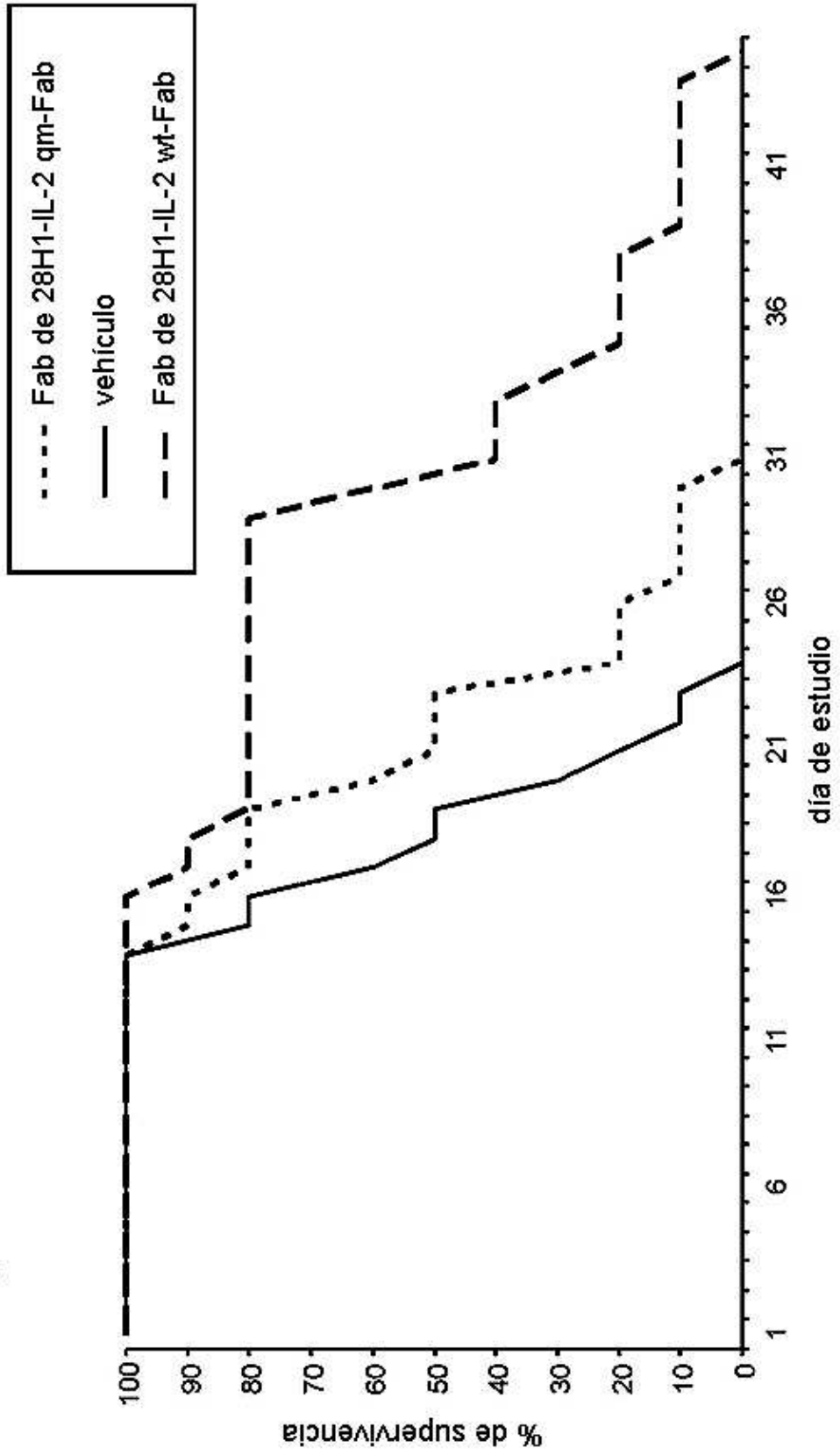


Figura 27



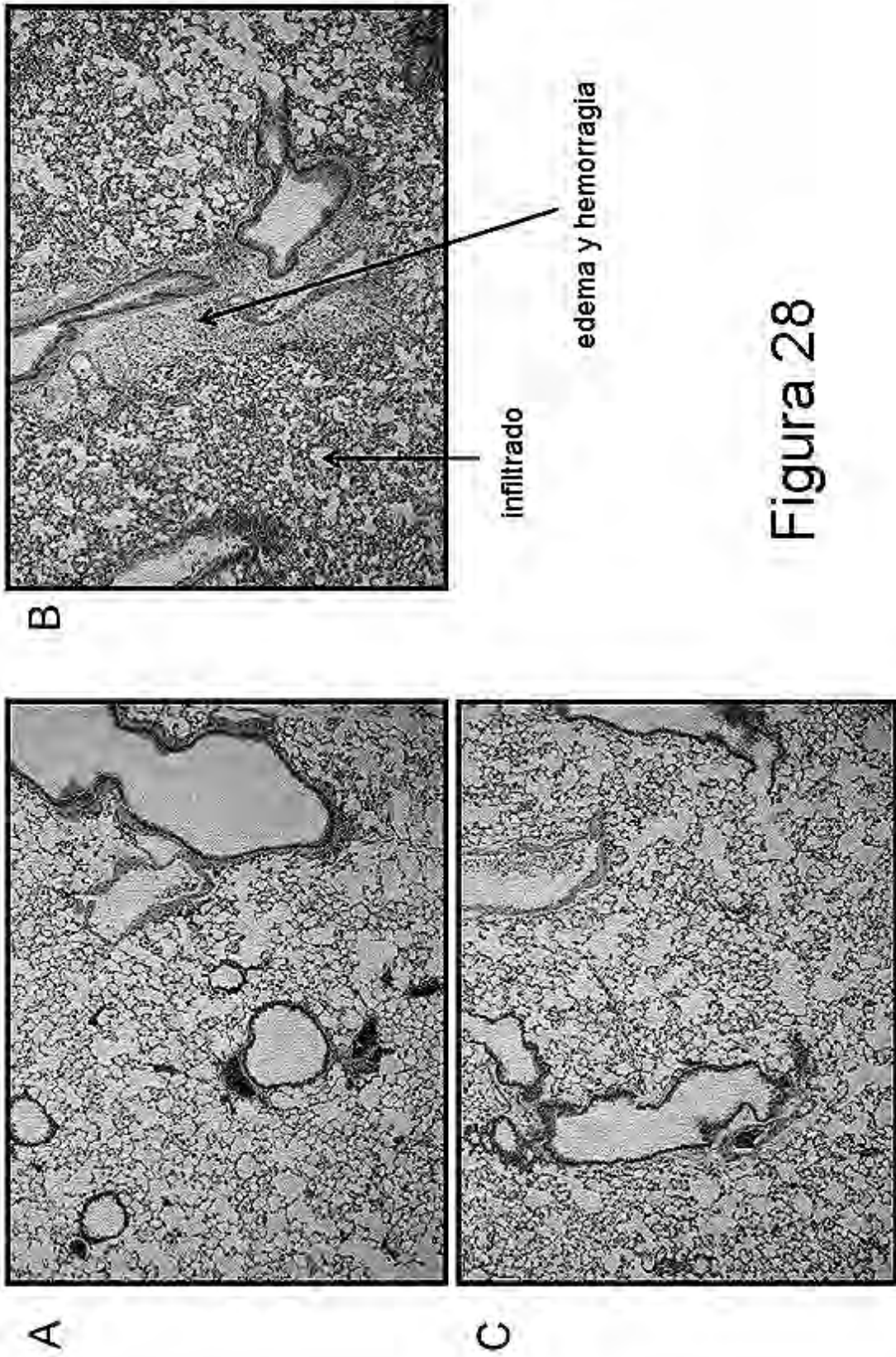
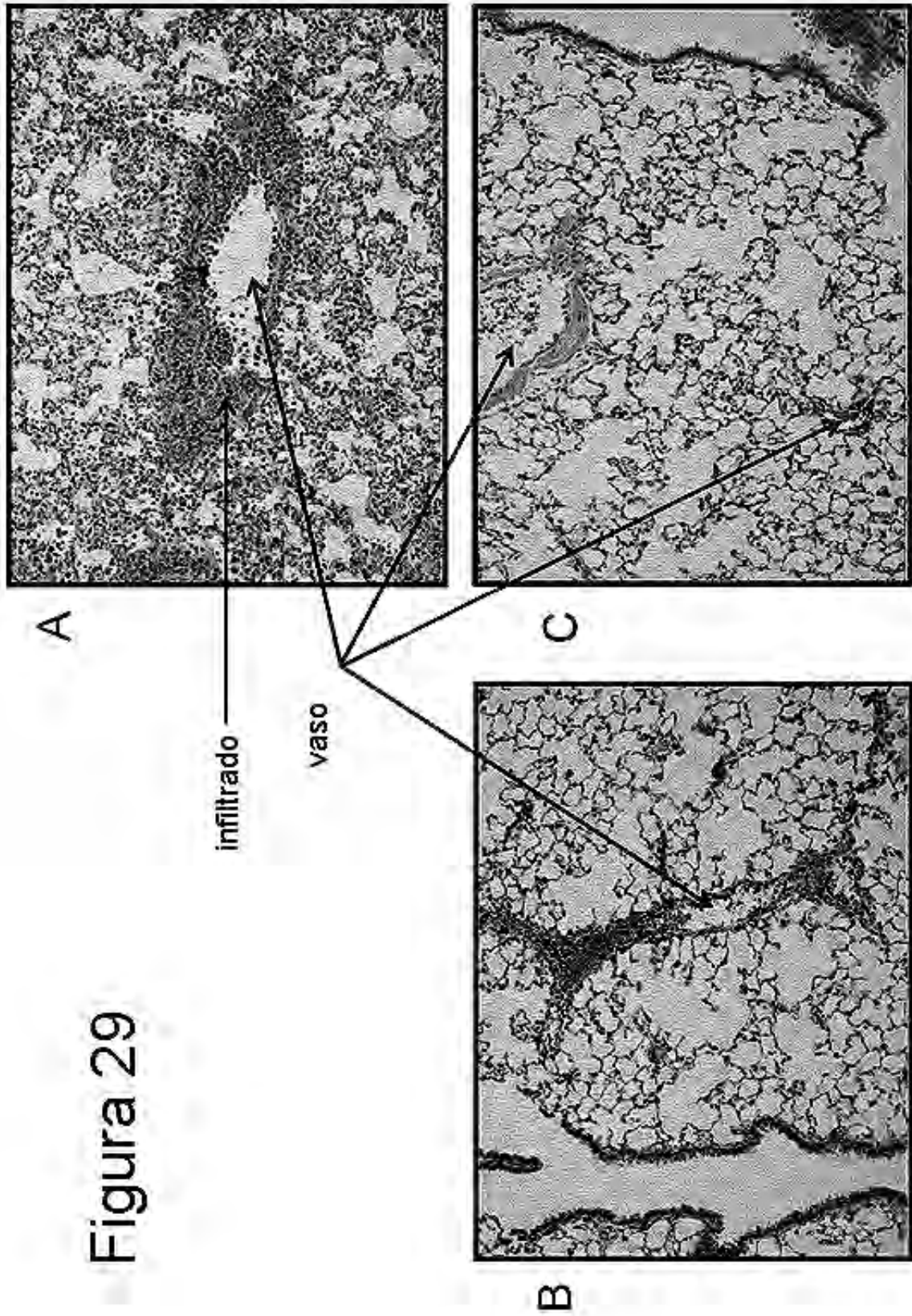


Figura 28





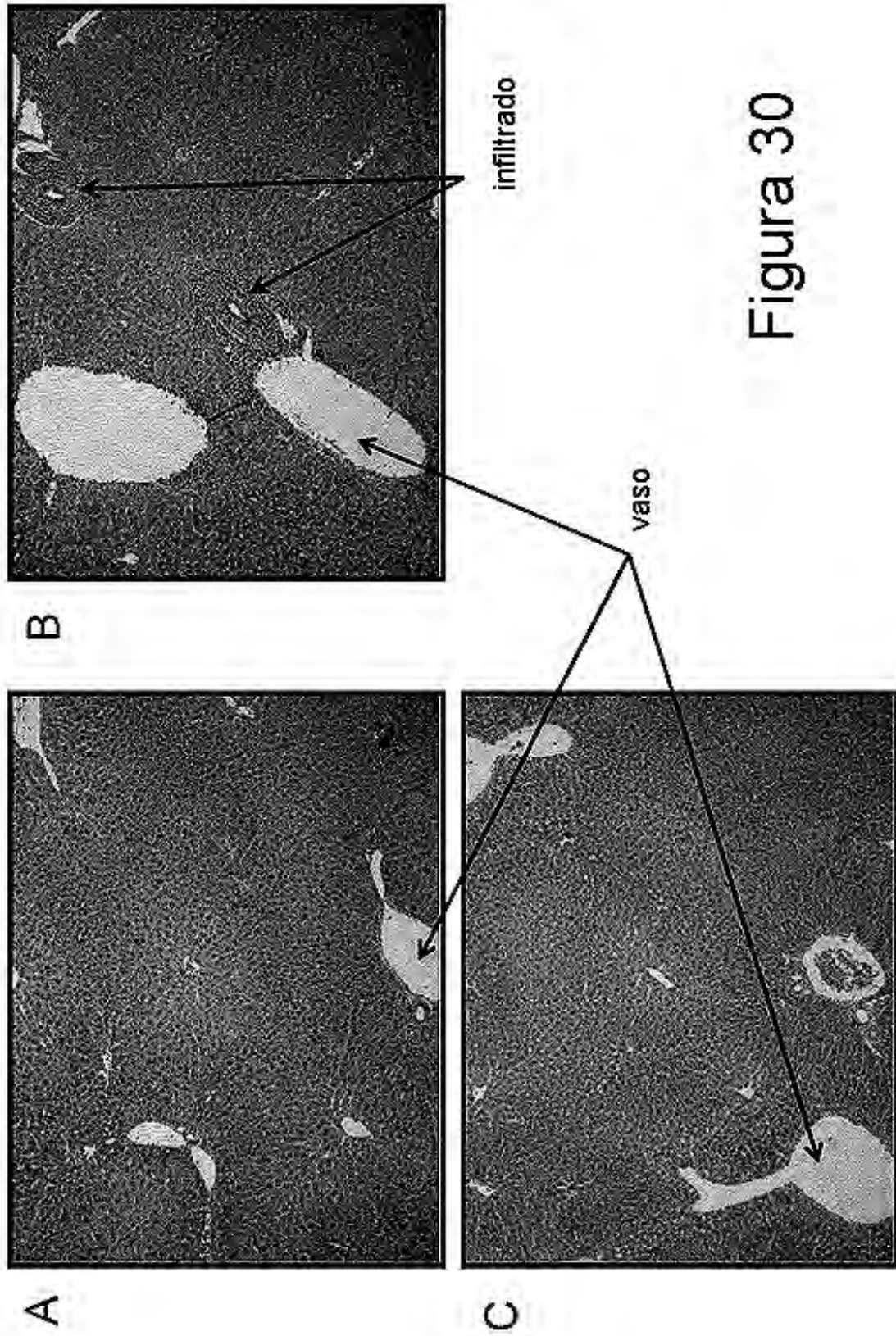


Figura 30



Figura 31

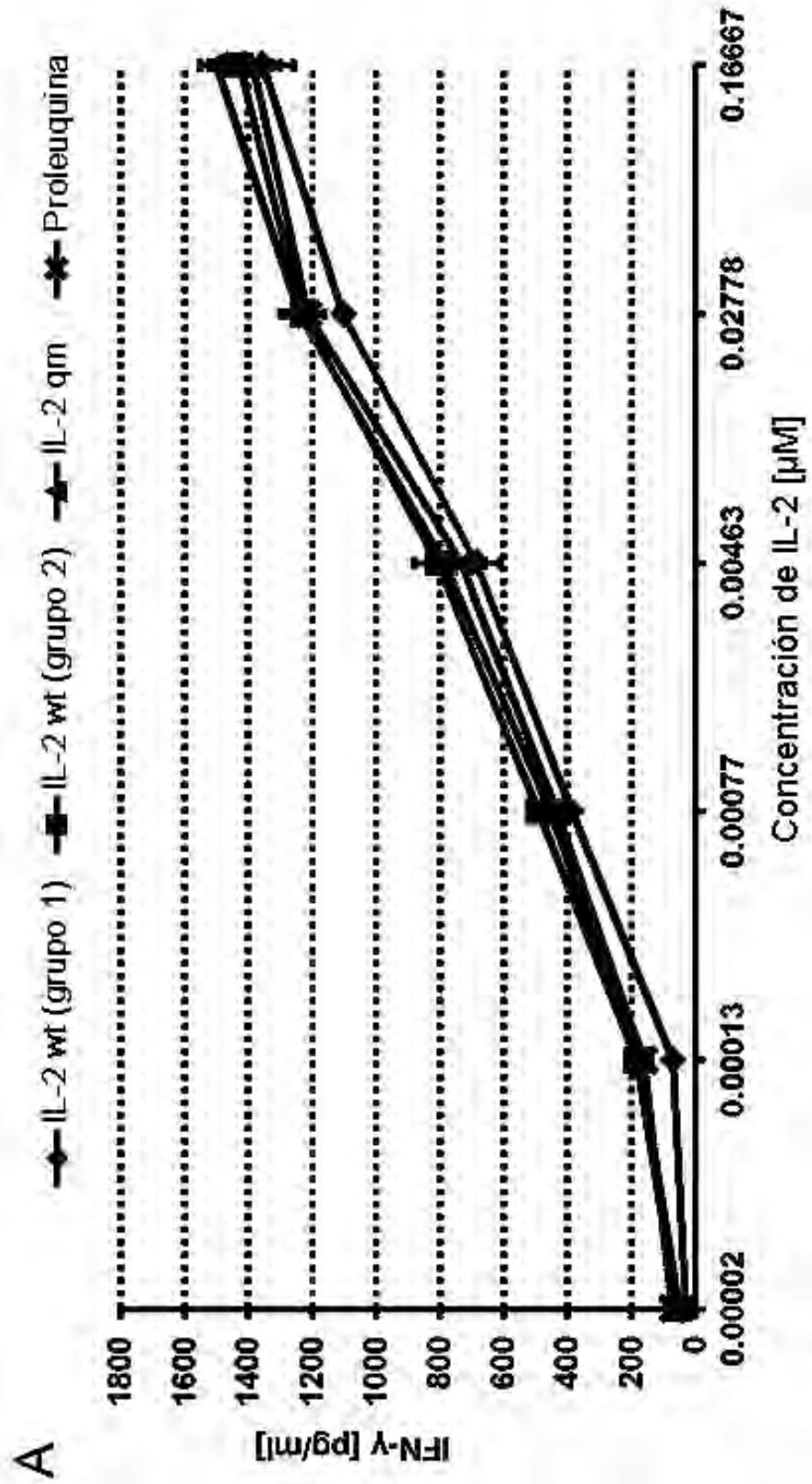


Figura 32

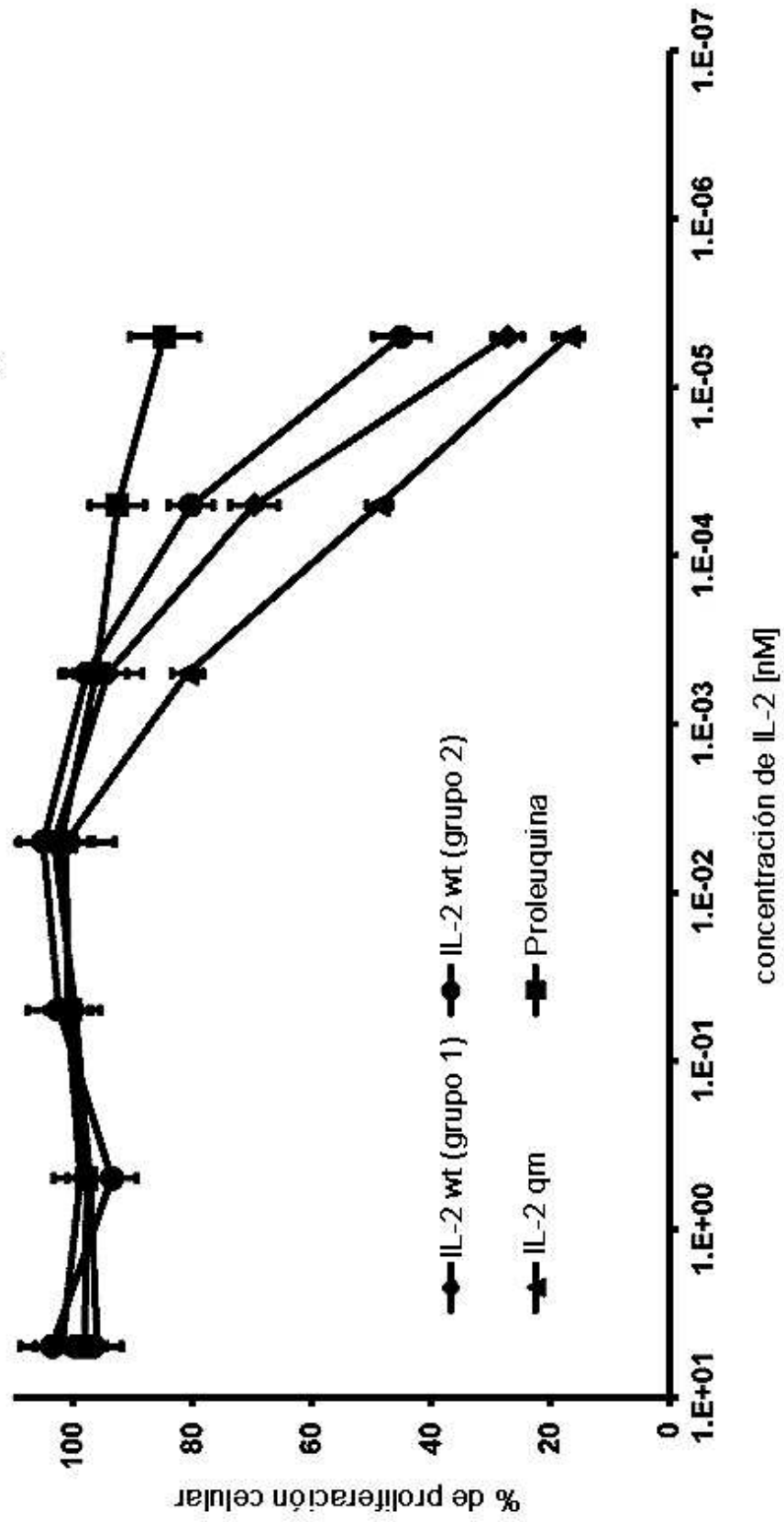
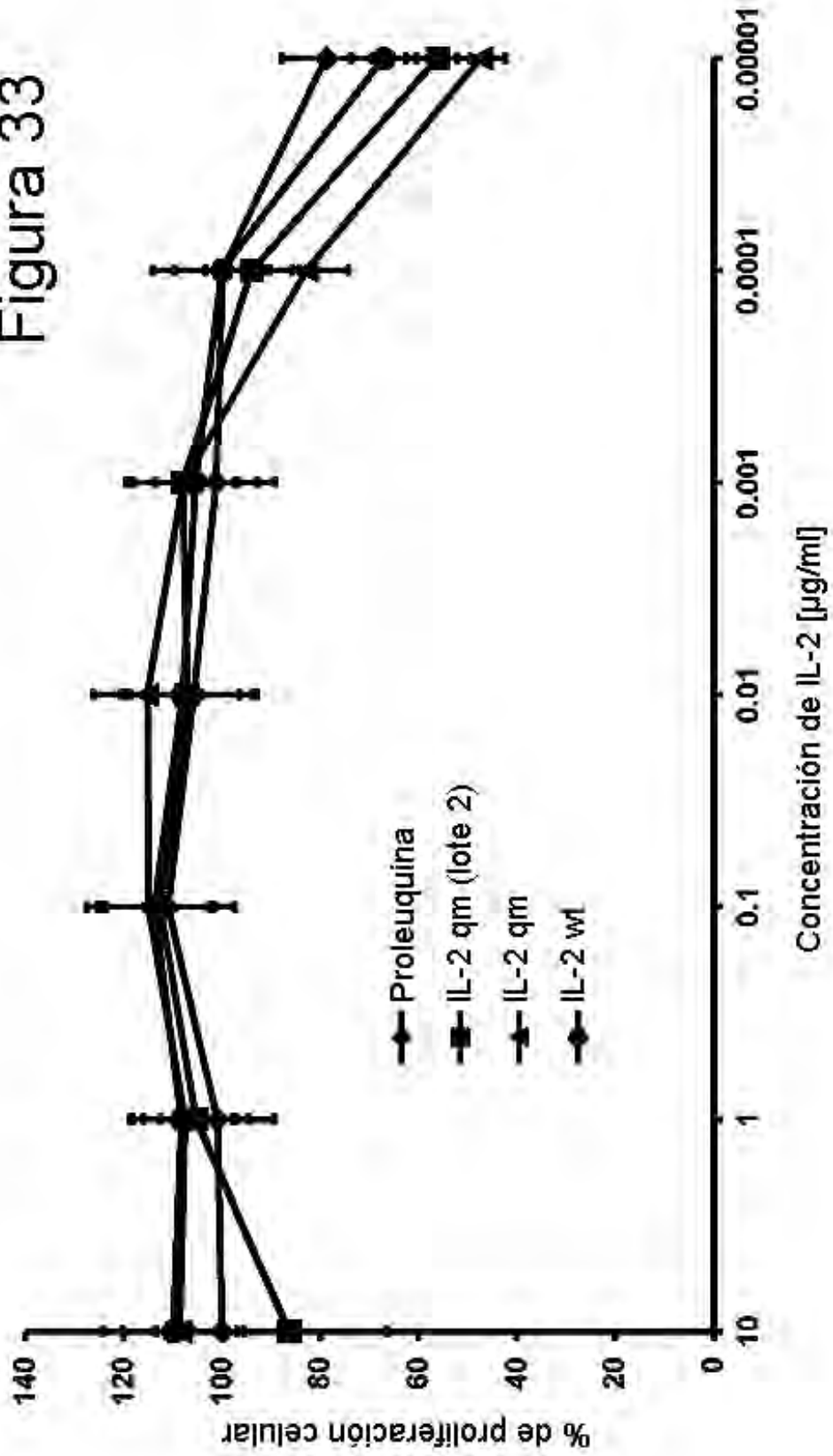


Figura 33



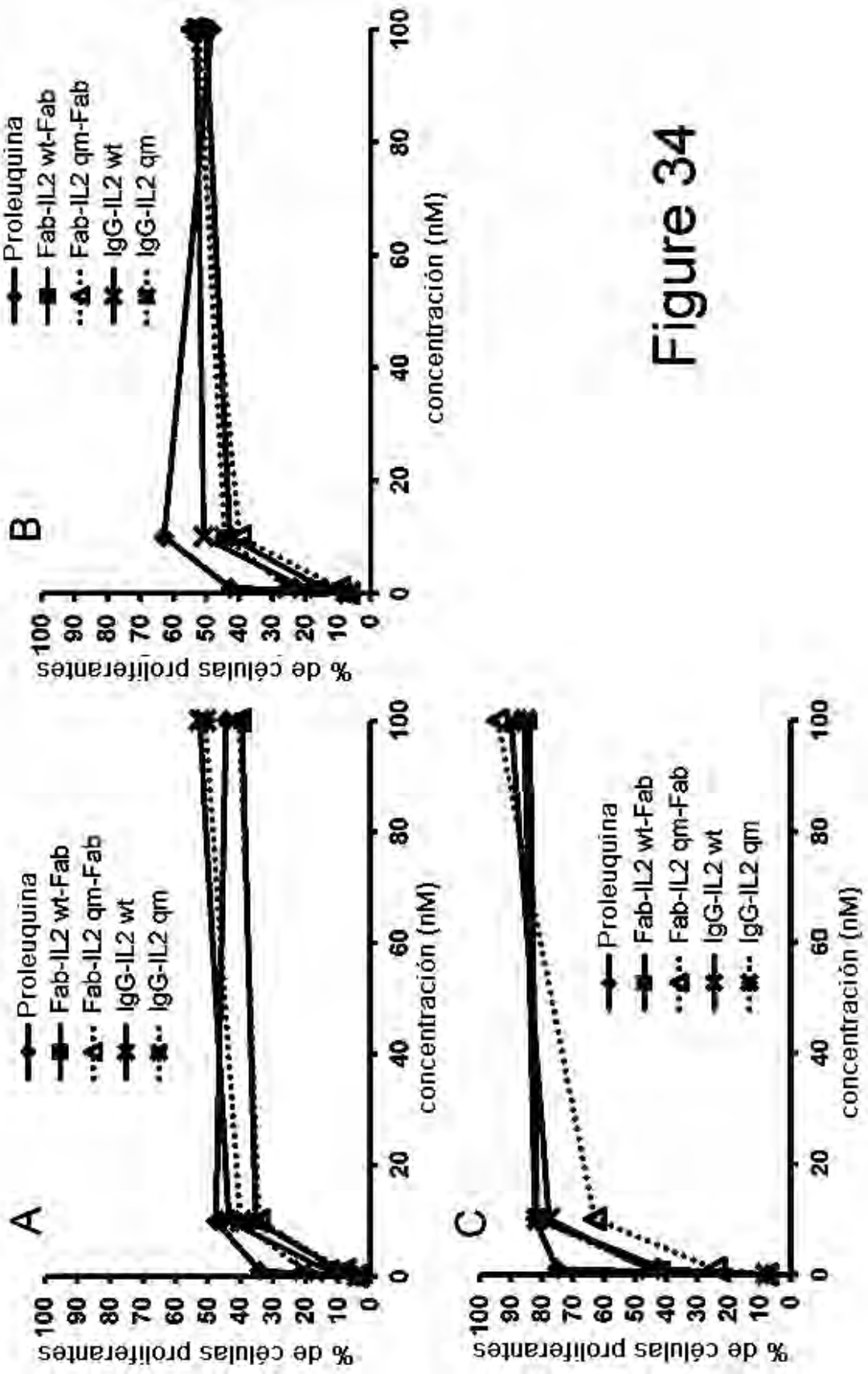


Figure 34

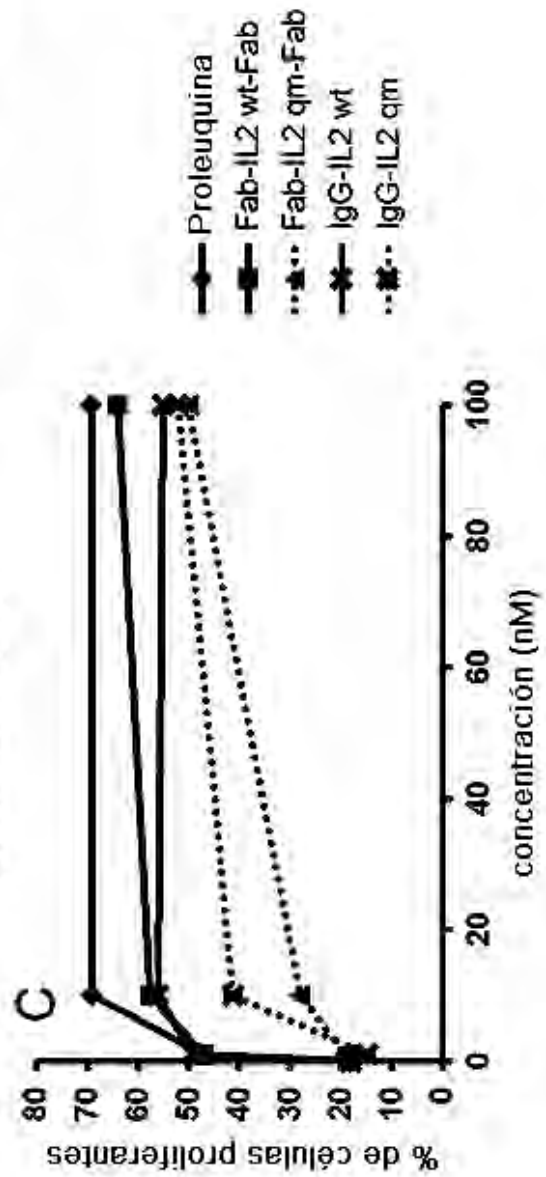
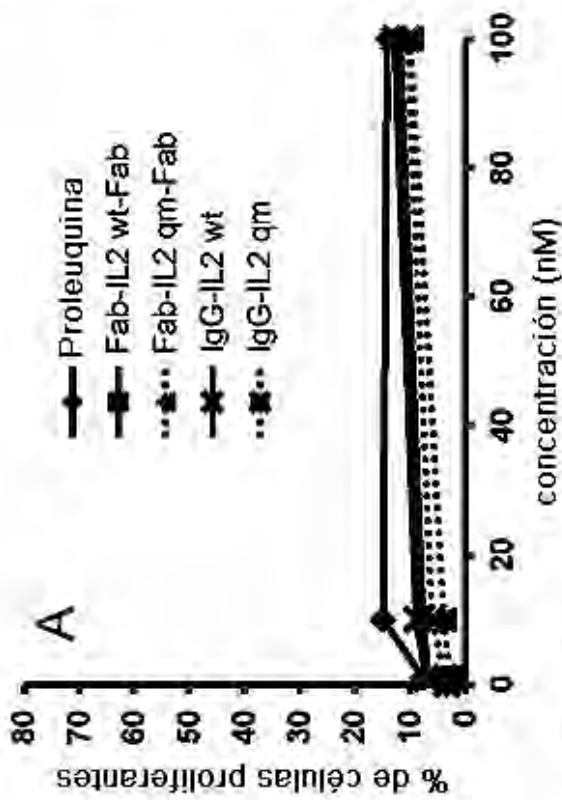
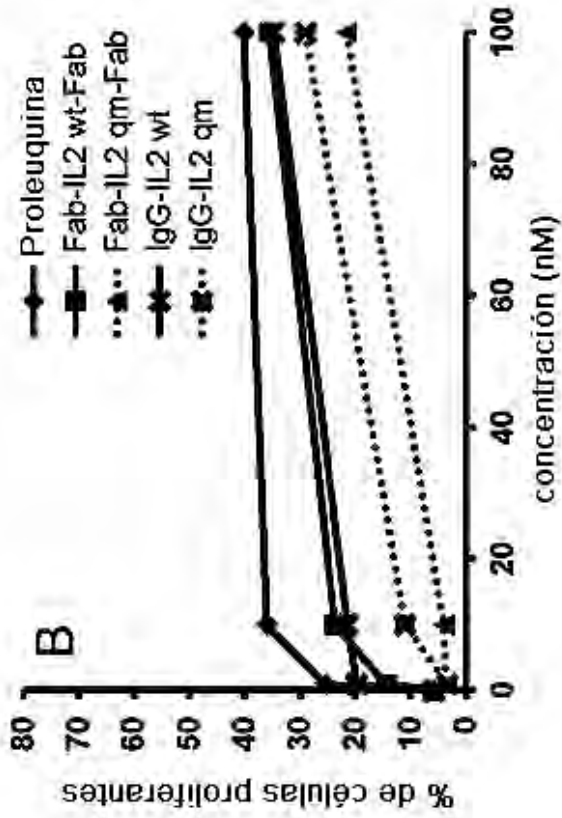


Figura 35

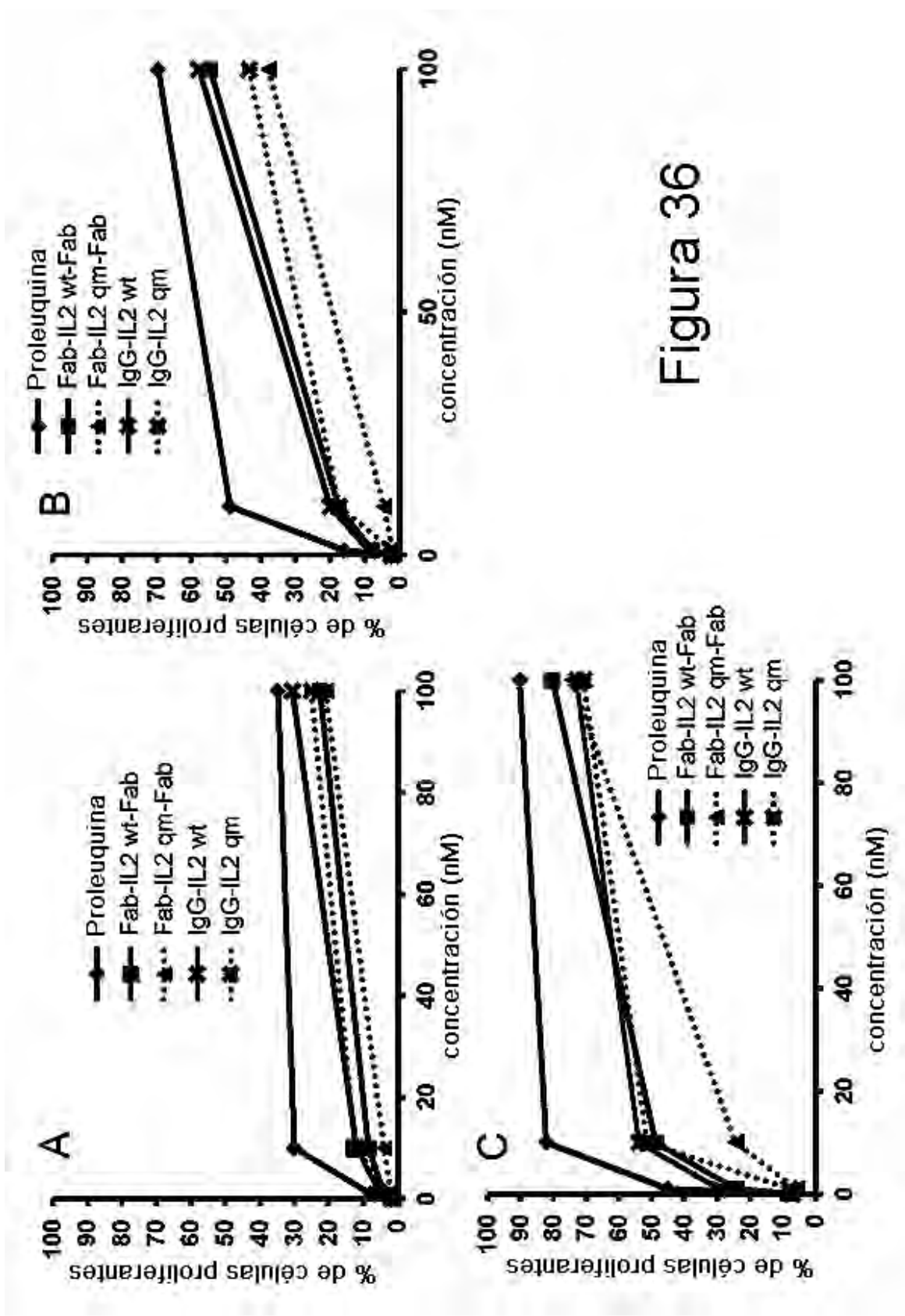


Figura 36

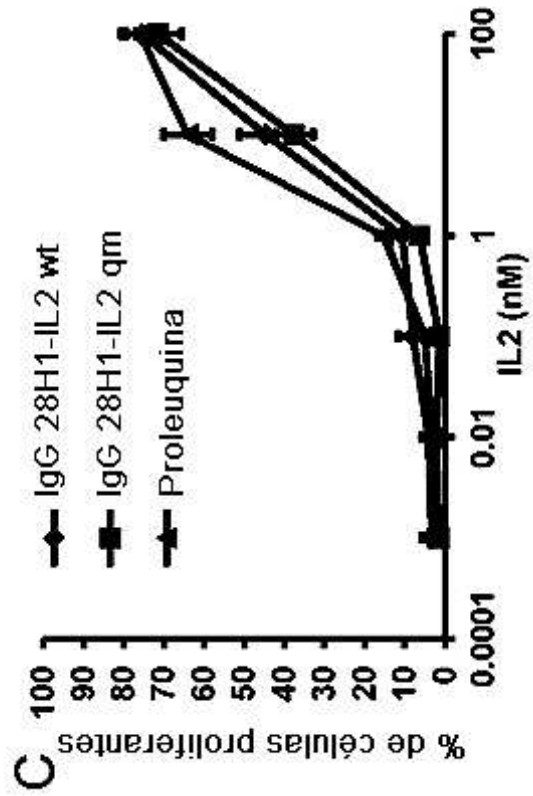
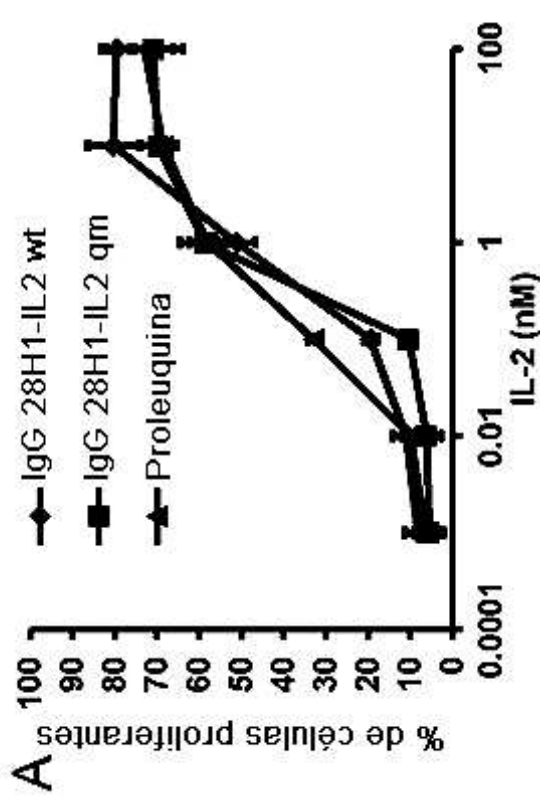
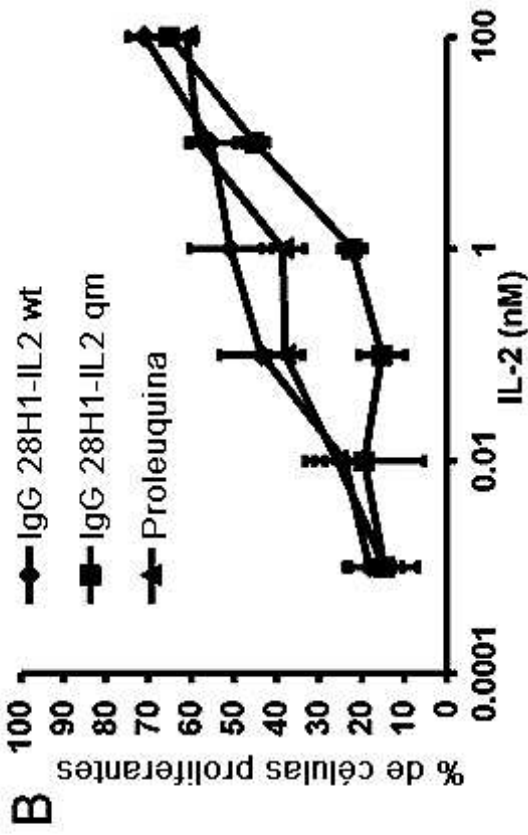
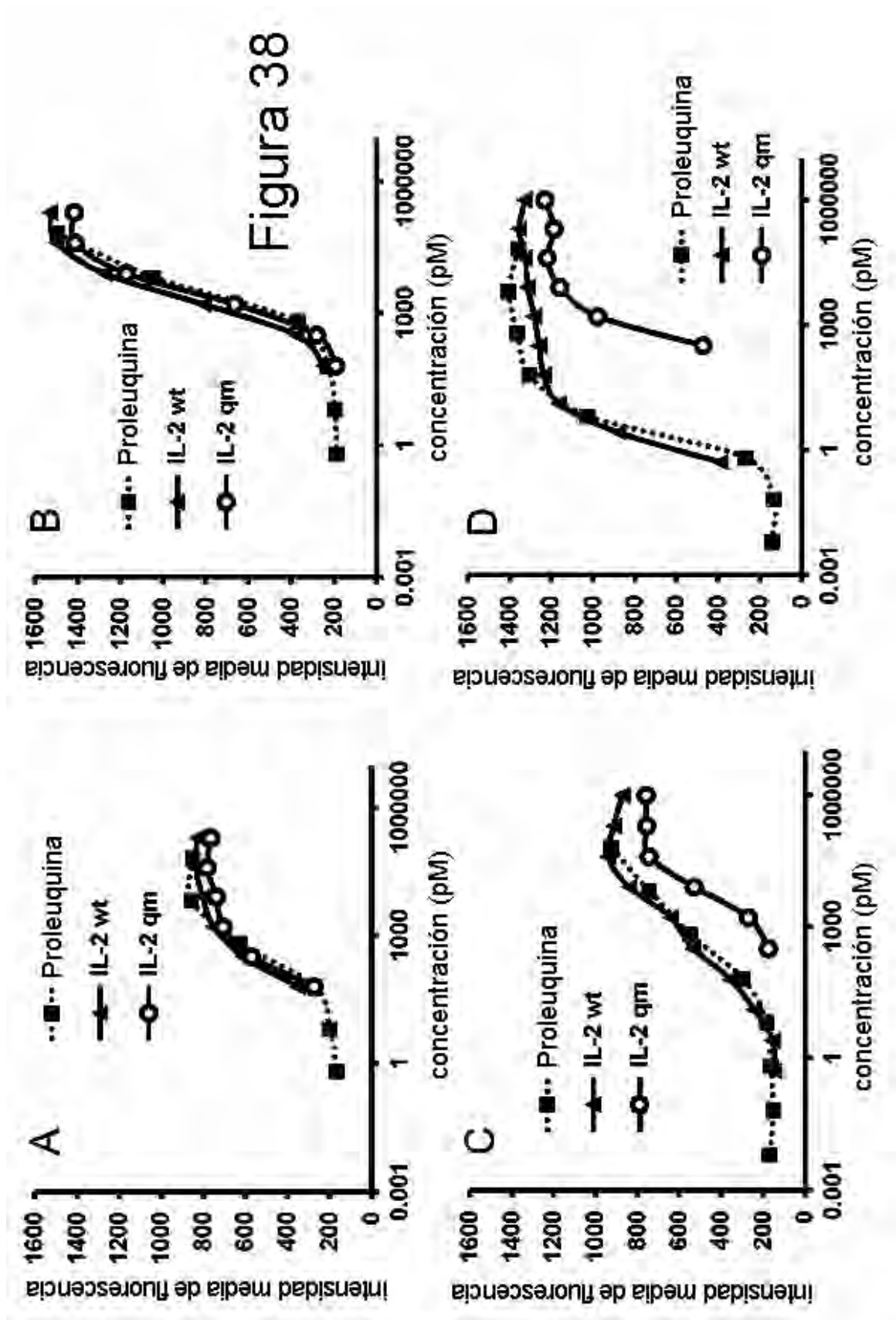


Figura 37





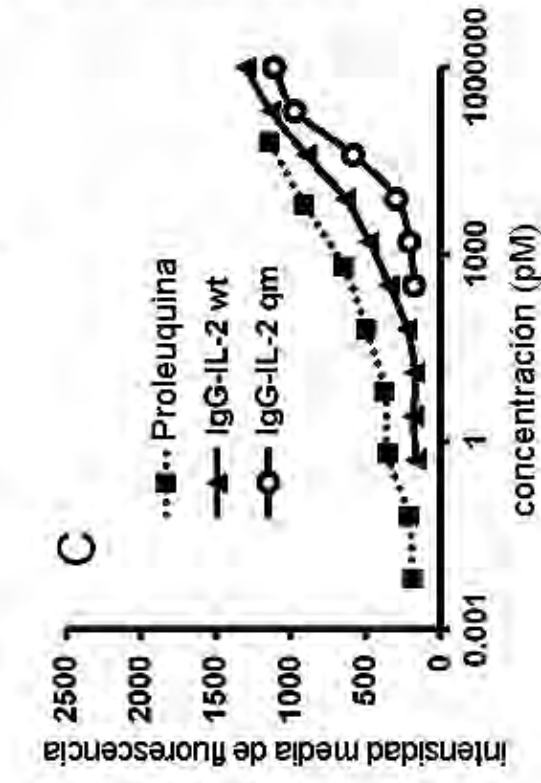
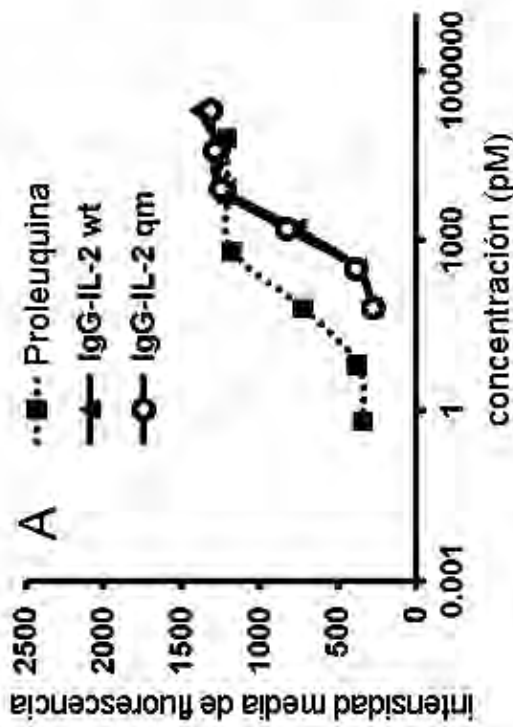
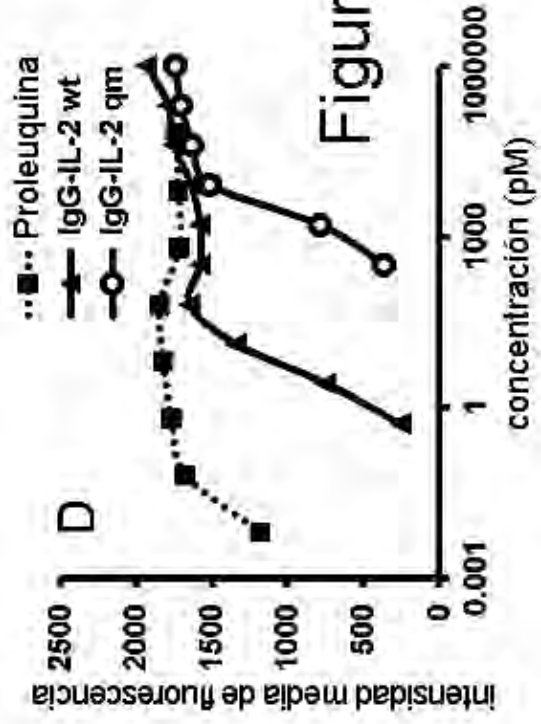
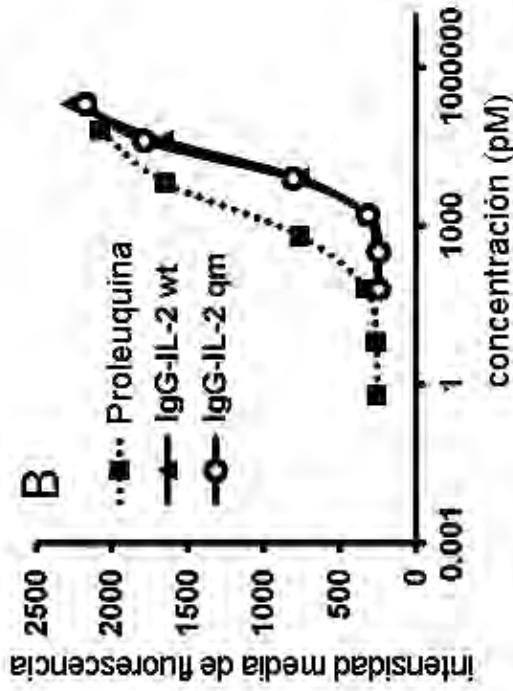


Figura 39

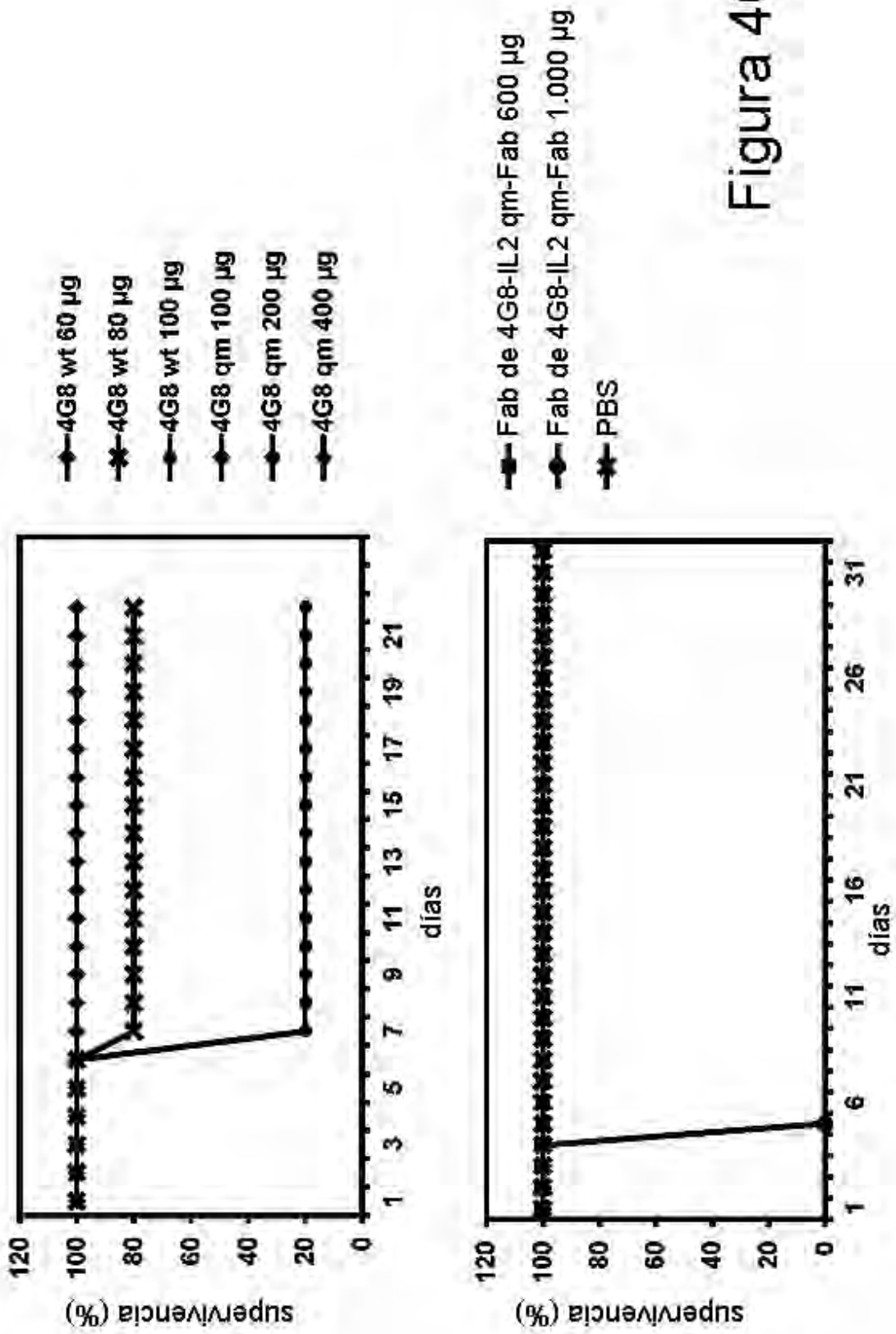


Figura 40

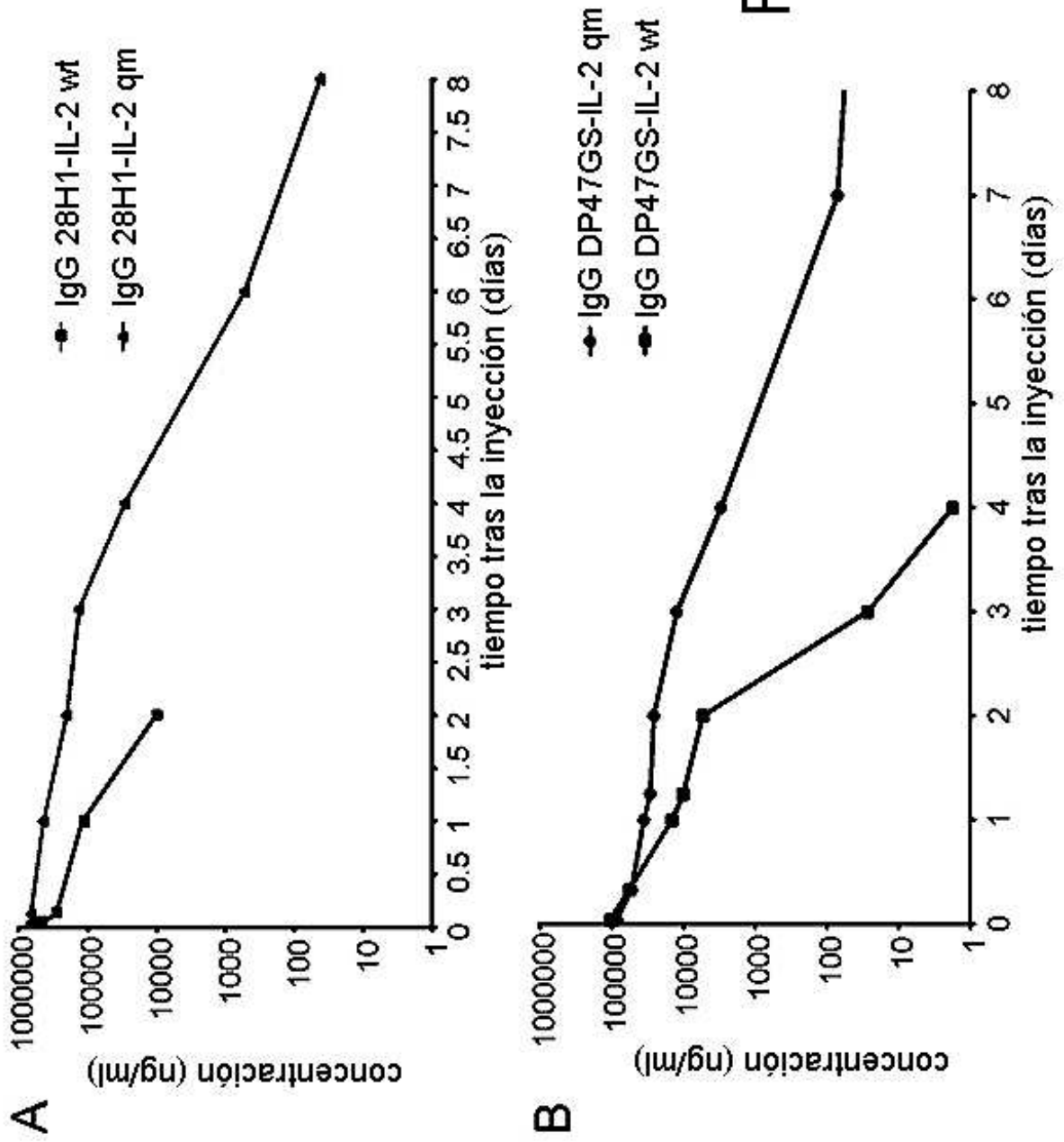


Figura 41

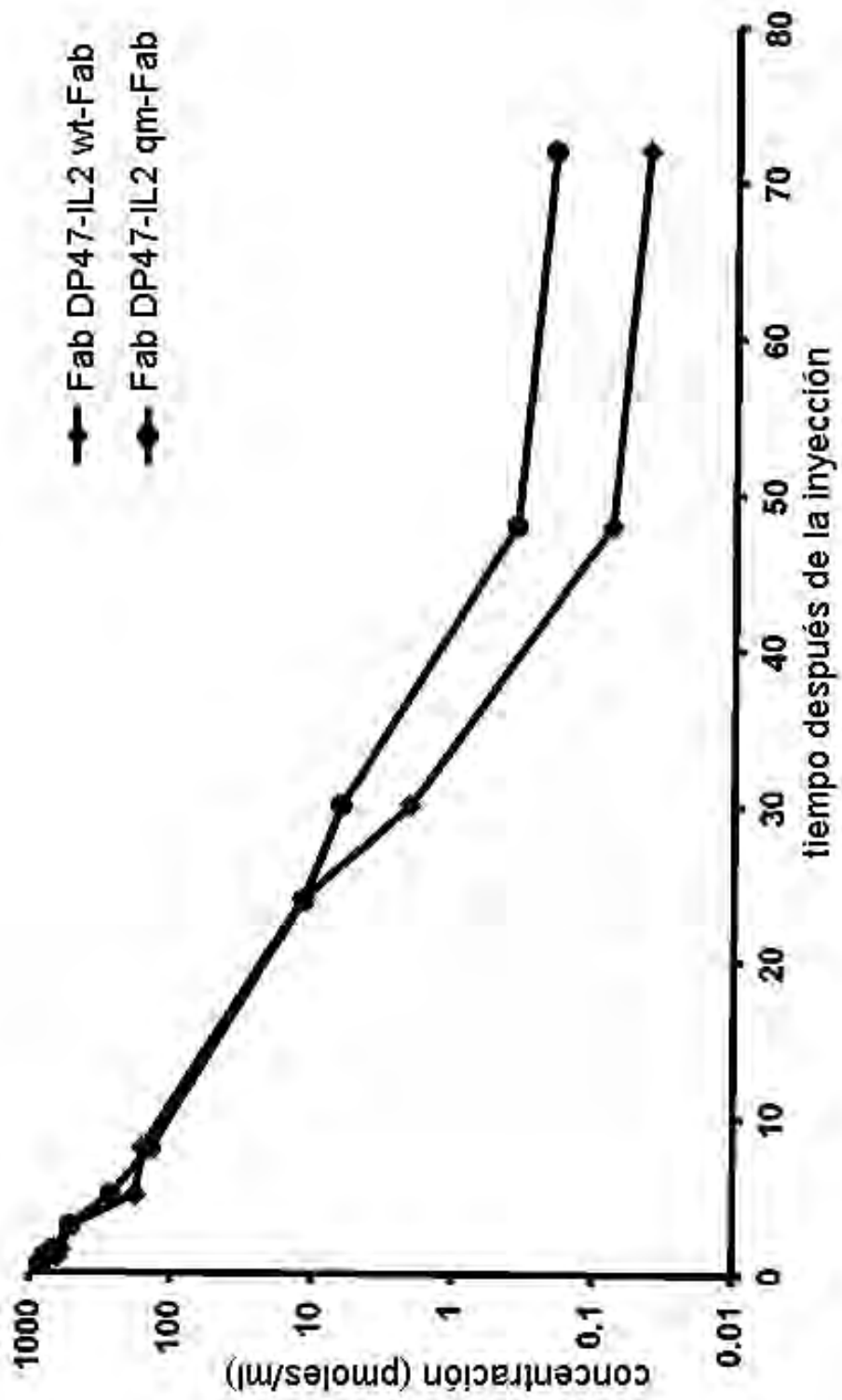


Figura 42

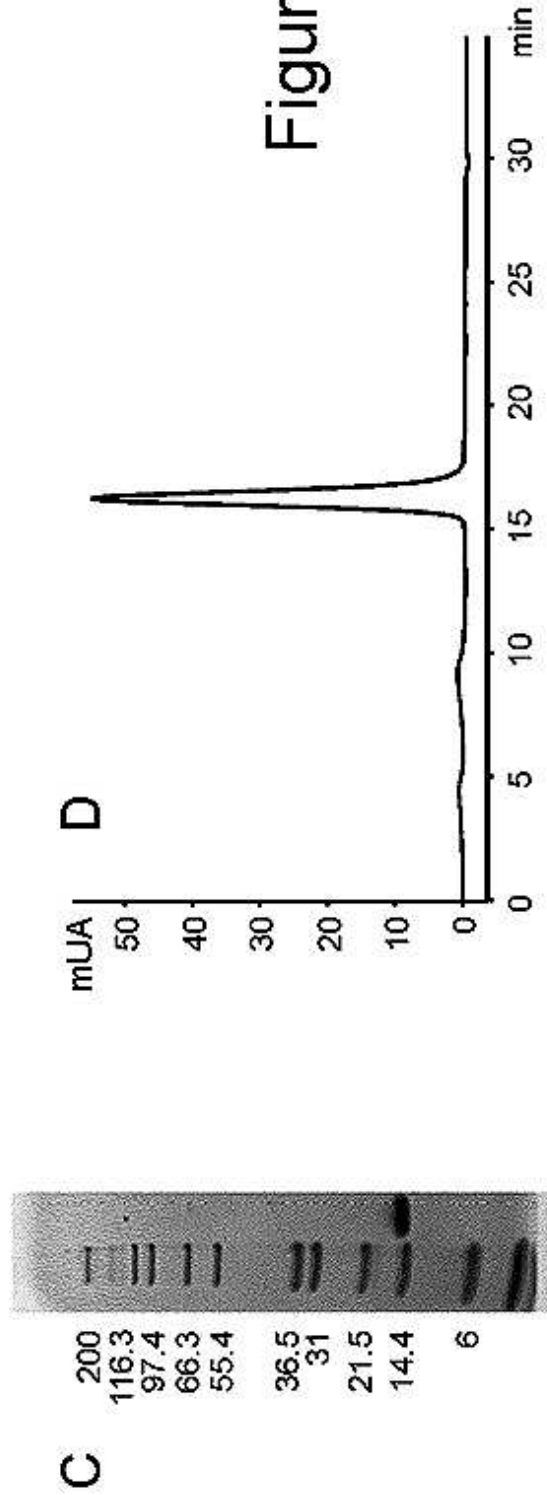
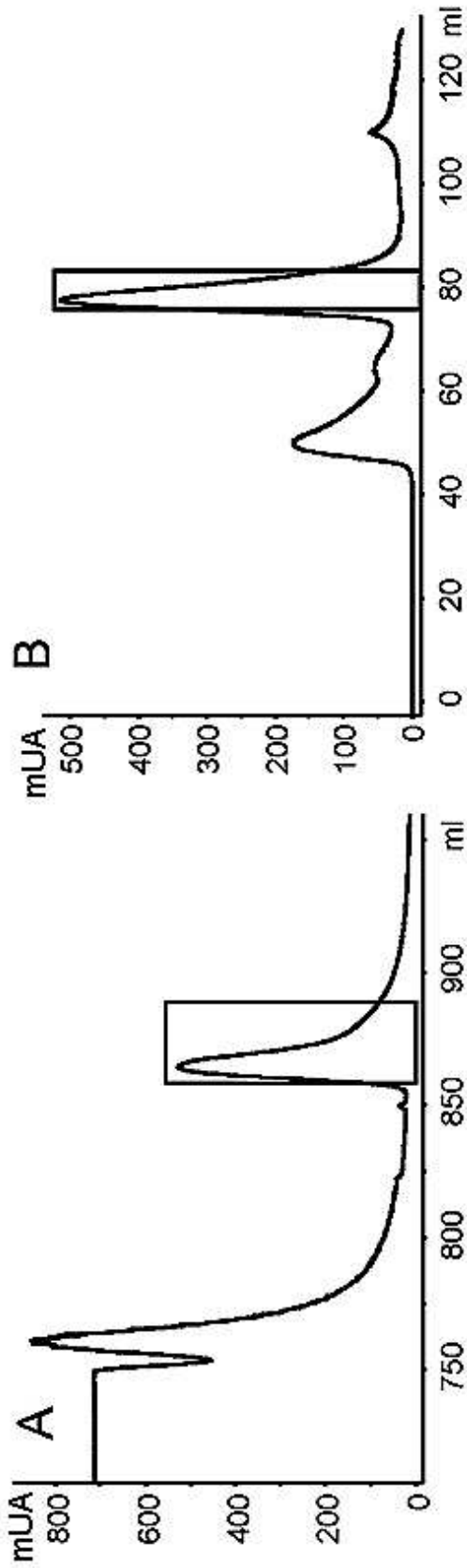


Figura 43

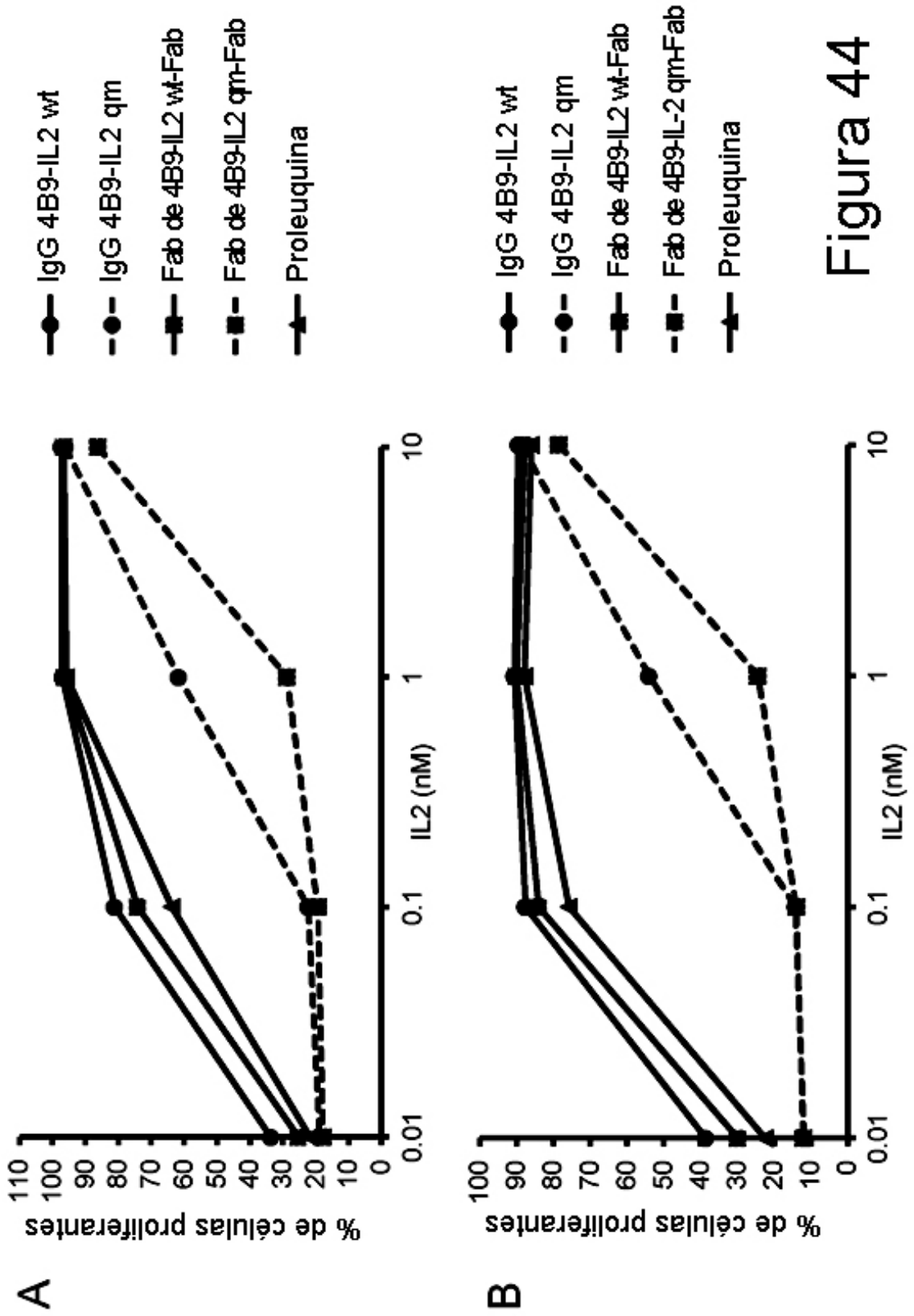


Figura 44

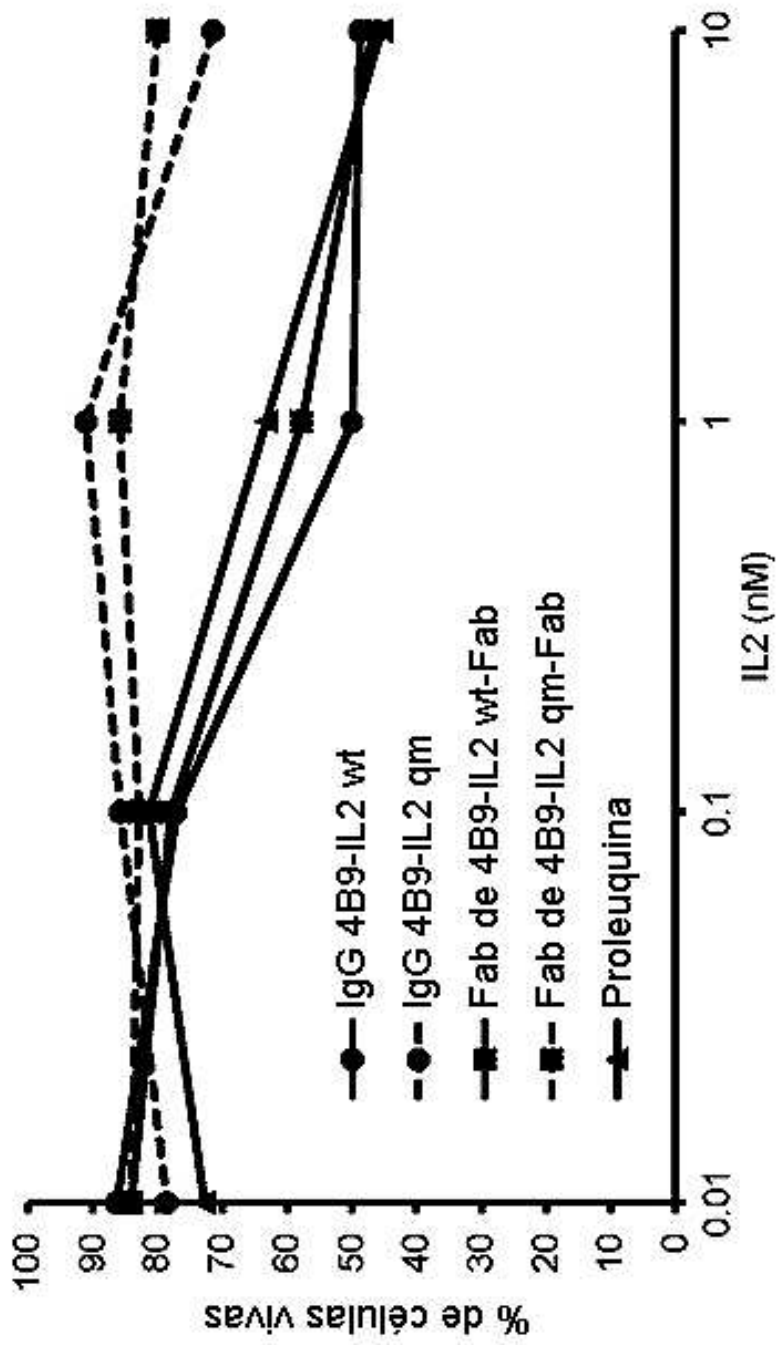


Figura 45

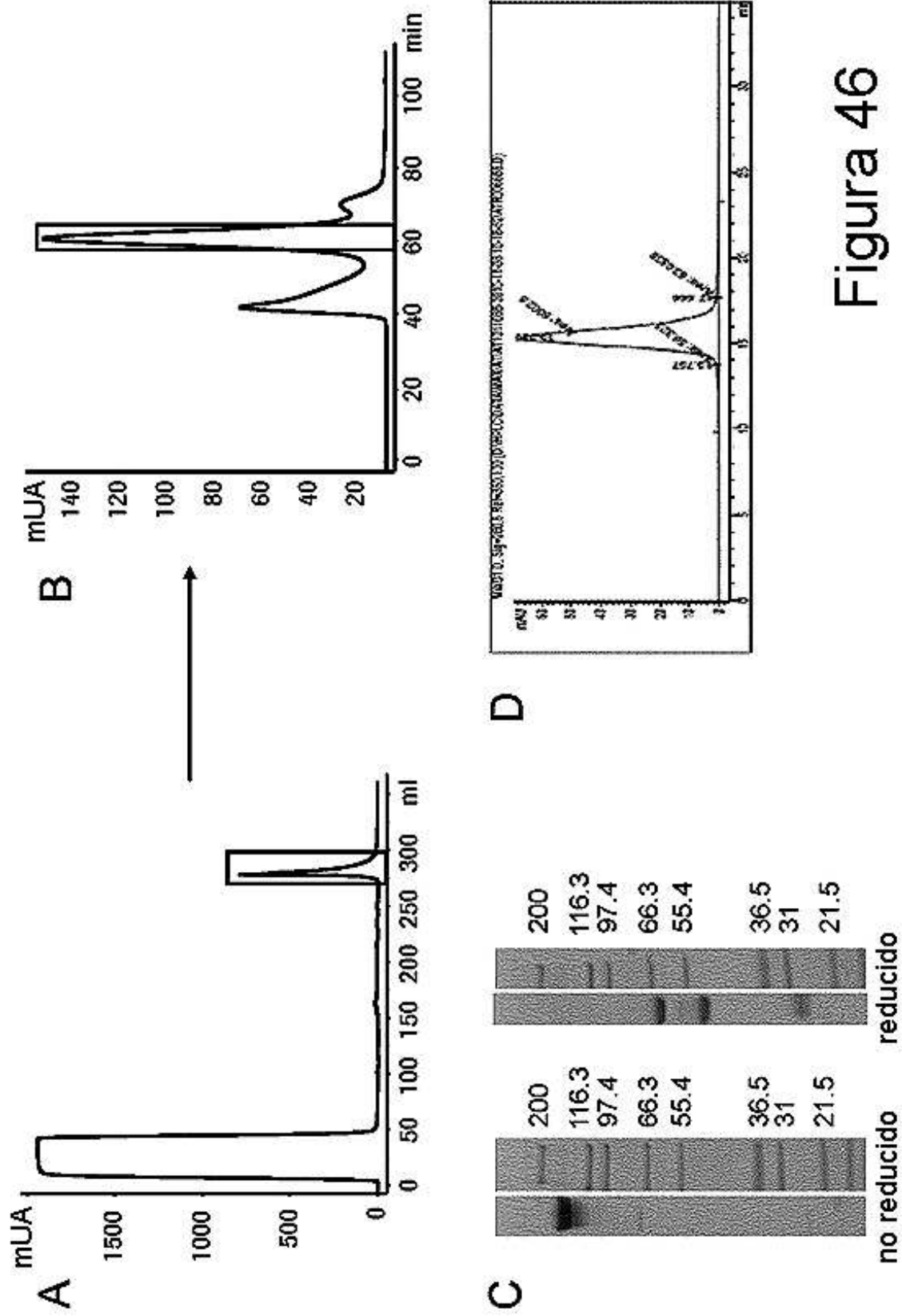


Figura 46





Figura 48

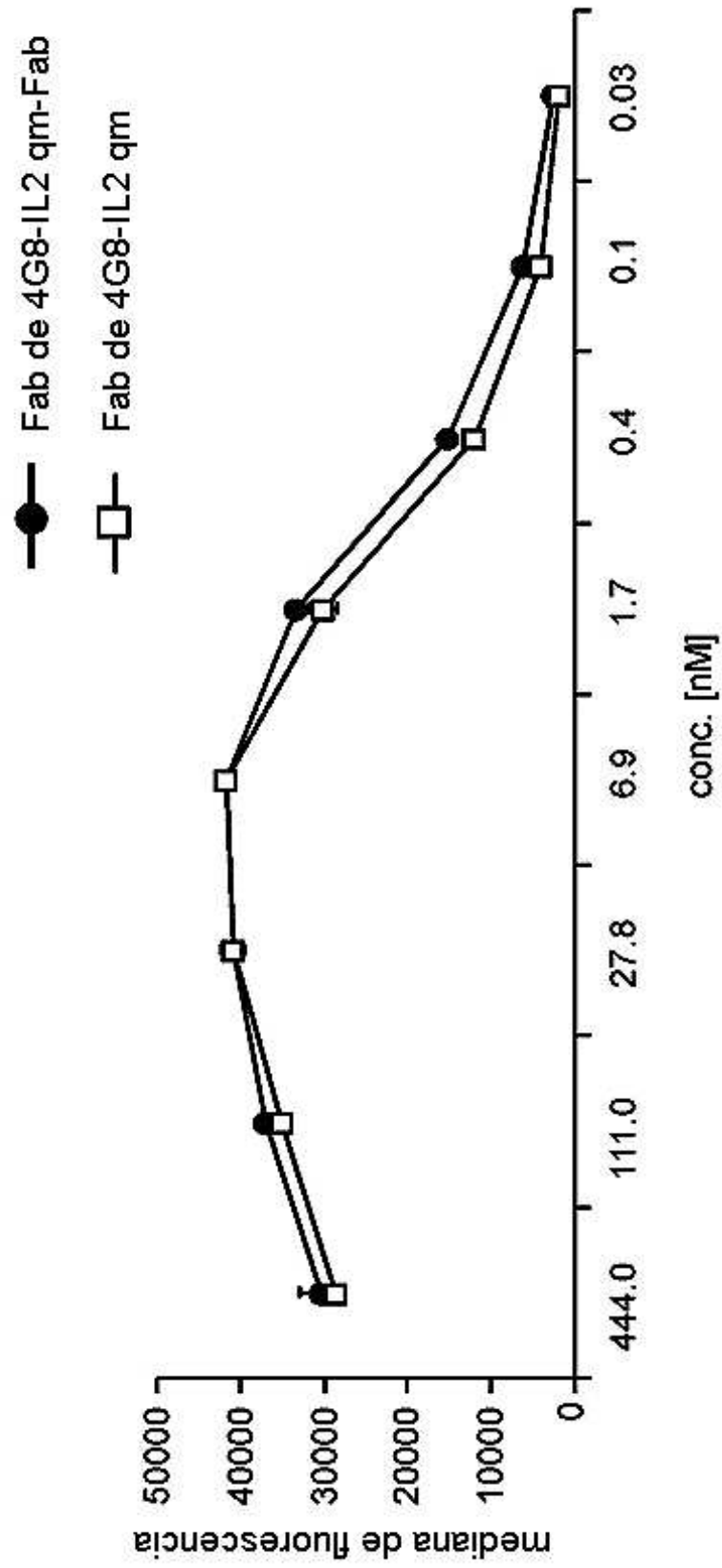


Figura 49

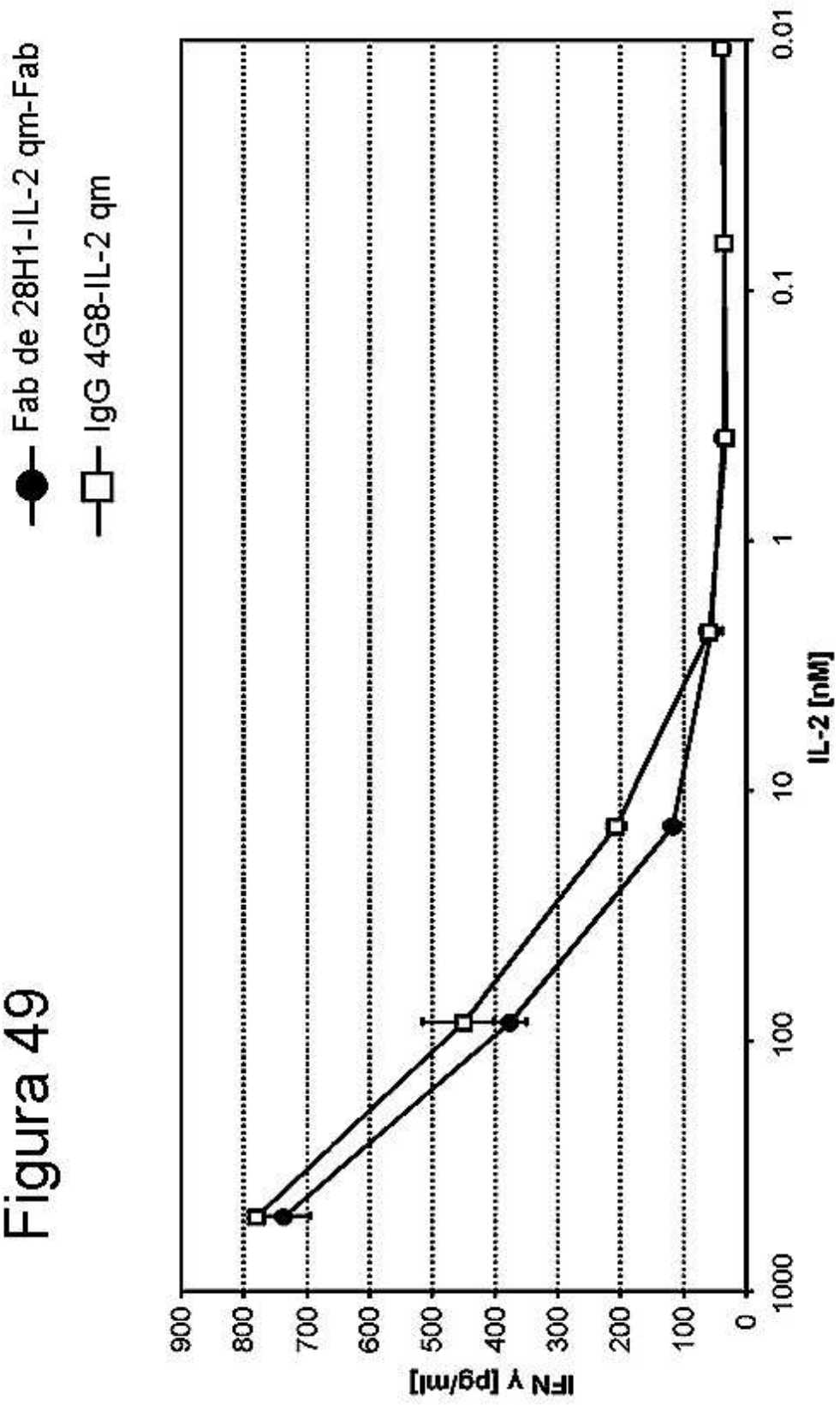


Figura 50

