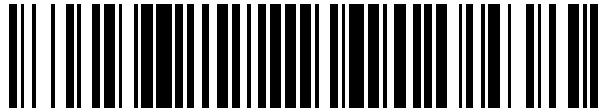


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 551**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2015 PCT/US2015/041192**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.01.2016 WO16014434**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2015 E 15744834 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3172233**

54 Título: **Anticuerpos anti-cd74, composiciones que comprenden anticuerpos anti-CD74 y procedimientos de uso de los anticuerpos anti-CD74**

30 Prioridad:

**22.07.2014 US 201462027637 P**

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

**13.04.2020**

73 Titular/es:

**SUTRO BIOPHARMA, INC (100.0%)  
310 Utah Street, Suite 150  
South San Francisco, California 94080, US**

72 Inventor/es:

**PENTA, KALYANI;  
STAFFORD, RYAN;  
GILL, AVINASH;  
LI, XIAOFAN;  
YAM, ALICE;  
THANOS, CHRISTOPHER y  
SATO, AARON**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 753 551 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-cd74, composiciones que comprenden anticuerpos anti-CD74 y procedimientos de uso de los anticuerpos anti-CD74

5

### Campo

En el presente documento se proporcionan anticuerpos con especificidad de unión para CD74 y composiciones que comprenden los anticuerpos, incluyendo composiciones farmacéuticas, composiciones de diagnóstico y kits. También se proporcionan procedimientos para usar anticuerpos anti-CD74 con fines terapéuticos y de diagnóstico.

10

### Antecedentes

La cadena gamma del antígeno de histocompatibilidad de clase II del antígeno leucocitario humano (HLA) (también conocida como cadena invariable asociada a los antígenos HLA-DR o CD74 (clúster de diferenciación 74)) es una proteína que participa en la formación y el transporte de la proteína del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II. Véase Claesson y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1983, 80:7395-7399; Kudo y col., Nucleic Acids Res., 1985, 13:8827-8841; y Cresswell, Ann. Rev. Immunol., 1994, 12:259-291.

15

Una función de CD74 es regular la carga de péptidos en heterodímeros de MHC clase II en compartimentos intracelulares, para evitar que el MHC de clase II se una a péptidos celulares. Todavía no se conoce el rango completo de funcionalidad del CD74 expresado en la superficie celular. Sin embargo, los estudios han demostrado que CD74 es un receptor para el factor inhibidor de la migración de macrófagos de citocinas proinflamatorias (MIF). La unión de MIF a CD74 activa la señalización aguas abajo a través de las rutas MAPK y Akt y promueve la proliferación y supervivencia celular. Véase Gore y col., J. Biol. Chem., 2008, 283:2784-2792; y Starlets y col., Blood, 2006, 107:4807-4816.

20

25

Se ha observado una regulación por aumento de la expresión de CD74 en cánceres y enfermedades autoinmunes (Borghese y col., Exp. Op. Ther. Targets, 2011,15:237-251), así como en infección (Hofman y col., Modern Pathology, 2007, 20: 974-989) y afecciones inflamatorias (Vera y col., Exp. Biol. & Med., 2008, 233:620-626). Se sabe que CD74 se expresa a niveles moderados a altos en el mieloma múltiple. Burton y col., Clin. Cancer Res., 2004, 10:6606-6611. También se sabe que la expresión de CD74 es un factor clave asociado a la progresión del cáncer de páncreas. Zhang y col., Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int., 2014, 13:81-86.

30

En vista del papel de CD74 en múltiples procesos de enfermedad, existe la necesidad de procedimientos mejorados para modular la interacción de CD74 con sus ligandos y los procesos de señalización aguas abajo activados por CD74. Por otro lado, dada la regulación por aumento de CD74 en varias enfermedades, también existe la necesidad de terapias que se dirijan específicamente a las células y tejidos que sobreexpresan CD74.

35

Stein y col., 2004, Blood, 104: 3705-3711 desvela un anticuerpo monoclonal anti-CD74 humanizado. Burton y col., 2004, Clin. Cancer Res. 10: 6606-6611, Berkova y col., 2010, Expert Opin. Invest. Drugs 19: 141-149 y el documento WO2012 / 104344 desvelan que CD74 es un objetivo para la inmunoterapia de tumores malignos de células B.

40

Pawlak-Byczkwska y col., 1989, Cancer Research 49: 4568-4577 desvela un anticuerpo que se ha confirmado que reacciona con CD74, según lo confirmado en el documento US2004 / 0219203.

45

### Sumario

La invención es como se define mediante las reivindicaciones.

50

En un primer aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD74, en el que el anticuerpo comprende:

- i. una VH que comprende: un CDR-H1 que comprende al menos una de las SEQ ID NO: 12 y 44; un CDR-H2 que comprende al menos una de las SEQ ID NO: 76 y 108; y una CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO:140;
- ii. una VL que comprende: una CDR-L1 que comprende la SEQ ID NO:174; una CDR-L2 que comprende la SEQ ID NO:194; y una CDR-L3 que comprende la SEQ ID NO:214.

55

En una realización, el anticuerpo aislado del primer aspecto puede comprender una región VH de la SEQ ID NO: 239, o una variante de la misma que tiene siete o menos sustituciones de aminoácidos, una región VL seleccionada de la SEQ ID NO: 268, o una variante de la misma que tiene cuatro o menos sustituciones de aminoácidos.

60

En una realización, las sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En una realización, el anticuerpo aislado puede comprender además al menos un dominio de región constante, opcionalmente además en el que la región constante comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO:

65

304-305.

En el presente documento se proporcionan anticuerpos que se unen selectivamente a CD74. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a más de una isoforma de CD74. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a CD74 humano. En algunas realizaciones, los anticuerpos también se unen a homólogos de CD74 humano. En algunos aspectos, el homólogo es un homólogo de mono cynomolgus.

En algunas realizaciones, los anticuerpos tienen temperaturas de fusión más altas que otros anticuerpos anti-CD74. En algunos aspectos, la  $T_m2$  de los anticuerpos es más alta que otros anticuerpos anti-CD74. La  $T_m2$  representa la temperatura de fusión del dominio Fab de una IgG. Por lo tanto, una  $T_m2$  mayor promueve la estabilidad del sitio de unión del anticuerpo. Tal estabilidad mejorada puede conducir a una mejor estabilidad del anticuerpo durante el almacenamiento, así como a un rendimiento mejorado durante la fabricación.

En algunos ejemplos, los anticuerpos comprenden al menos una secuencia de CDR definida mediante una secuencia consenso proporcionada en la presente divulgación. En algunas realizaciones, los anticuerpos comprenden una secuencia de CDR,  $V_H$  o  $V_L$ , proporcionada en la presente divulgación, o una variante de la misma. En algunos aspectos, la variante es una variante con una sustitución conservadora de aminoácidos.

También se proporcionan composiciones y kits que comprenden los anticuerpos. En algunas realizaciones, Las composiciones son composiciones farmacéuticas. Se puede usar cualquier composición farmacéutica adecuada. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición para administración parenteral.

La presente divulgación también proporciona procedimientos para usar los anticuerpos anti-CD74 proporcionados en el presente documento. En algunas realizaciones, el procedimiento es un procedimiento de tratamiento. En algunas realizaciones, el procedimiento es un procedimiento de diagnóstico. En algunas realizaciones, el procedimiento es un procedimiento analítico. En algunas realizaciones, el procedimiento es un procedimiento de purificación y / o cuantificación de CD74.

En algunas realizaciones, los anticuerpos se usan para tratar una enfermedad o afección. En algunos aspectos, la enfermedad o afección se selecciona de un cáncer, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad infecciosa y una afección inflamatoria. En algunos aspectos, el cáncer es cáncer de páncreas o mieloma múltiple.

### Breve descripción de los dibujos

La **figura 1** proporciona una comparación de los sistemas de numeración de Kabat y Chothia para CDR-H1. Véase Martin A.C.R. (2010). Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. En R. Kontermann y S. Dübel (Eds.), Antibody Engineering vol. 2 (pp. 33-51). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

### Descripción detallada

40

#### 1. Definiciones

Salvo que se definan de otra manera, todos los términos de la técnica, anotaciones y otra terminología científica que se usan en el presente documento pretenden tener los significados comprendidos normalmente por los expertos en la materia a la que pertenece la presente invención. En algunos casos, los términos con significados comprendidos normalmente se definen en el presente documento con fines de claridad y/o para tener una referencia inmediata, y la inclusión de dichas definiciones en el presente documento no se ha de considerar necesariamente que representan una diferencia frente a lo que se comprende en la técnica. Las técnicas y procedimientos descritos o referenciados en el presente documento generalmente se comprenden bien y se emplean comúnmente usando metodologías convencionales por los expertos en la materia, tales como, por ejemplo, las metodologías de clonación molecular ampliamente utilizadas descritas en Sambrook y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2ª ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Según sea adecuado, los procedimientos que implican el uso de kits y reactivos disponibles en el mercado generalmente se llevan a cabo de acuerdo con los protocolos y / o parámetros definidos por el fabricante a menos que se indique lo contrario.

Como se usa en el presente documento, las formas en singular "un/uno", "una", y "el/la" incluyen la referencia en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

El término "aproximadamente" indica y abarca un valor indicado y un intervalo por encima y por debajo de ese valor. En determinadas realizaciones, el término aproximadamente indica el valor designado  $\pm 10\%$ ,  $\pm 5\%$  o  $\pm 1\%$ . En determinadas realizaciones, el término aproximadamente indica el valor designado  $\pm$  una desviación estándar de ese valor.

Los términos "CD74" y "antígeno CD74" se usan indistintamente en el presente documento. A menos que se especifique de otra manera, los términos incluyen cualquier variante, isoforma y homólogo de especie de CD74 humano que son expresados naturalmente por las células, o que son expresados por células transfectadas con un

gen CD74.

Se sabe que existen al menos cuatro isoformas humanas de CD74, incluyendo p43, p41, p35 y p33. Borghese y col., Expert Opin. Ther. Targets, 2011, 15:237-251. Estas isoformas son el resultado de un corte y empalme de transcrito alternativo y dos sitios de inicio de la traducción.

p43 (también conocido como la isoforma 1 de CD74, isoforma a o "larga"; véase UniProt entry P04233-1 y la secuencia de referencia NCBI NP 001020330) contiene 296 aminoácidos, formando los restos 73-296 la porción extracelular. Las construcciones de proteínas de CD74 que tienen la parte extracelular de la isoforma 1 se denominan en el presente documento "variante 1" o "CD74v1".

p35 (también conocido como isoforma 2 de CD74, isoforma b o "corta"; véase la entrada de UniProt P04233-2 y la secuencia de referencia NCBI NP 004346) carece de los restos 209-272 del dominio extracelular debido al corte y empalme alternativo. Las construcciones de proteínas de CD74 que tienen la parte extracelular de la isoforma 2 se denominan en el presente documento "variante 2" o "CD74v2".

p41 y p33 surgen de un sitio de inicio de la traducción alternativo (48 nucleótidos / 16 aminoácidos aguas abajo) que conduce a variantes que carecen de la señal de retención del retículo endoplásmico (ER) que está presente dentro de los 16 aminoácidos eliminados, pero que tiene un dominio extracelular que es idéntico a p43 y p35, respectivamente.

La secuencia de otra isoforma (conocida como isoforma 3 e isoforma c), en la que se reemplazan los restos 148-160 y faltan los restos 161-296, se proporciona en NP 001020329.

Las secuencias de homólogos de CD74 de cynomolgus se proporcionan en, por ejemplo, la secuencia de referencia NCBI: XP-001099491.2 y la secuencia de referencia NCBI: XP-002804624.1.

El término "inmunoglobulina" se refiere a una clase de proteínas relacionadas estructuralmente que consiste en dos pares de cadenas polipeptídicas, un par de cadenas ligeras (L) y un par de cadenas pesadas (H). En una inmunoglobulina intacta, las cuatro cadenas están interconectadas por enlaces disulfuro. La estructura de las inmunoglobulinas ha sido bien caracterizada. Véase, por ejemplo, Paul, Fundamental Immunology 7<sup>a</sup> ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, PA. Brevemente, cada cadena pesada normalmente comprende una región variable de cadena pesada ( $V_H$ ) y una región constante de cadena pesada ( $C_H$ ). La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ . Cada cadena ligera normalmente comprende una región variable de cadena ligera ( $V_L$ ) y una región constante de cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende normalmente un dominio, abreviada a  $C_L$ .

El término "anticuerpo" describe un tipo de molécula de inmunoglobulina y se usa en el presente documento en su sentido más amplio. Un anticuerpo incluye específicamente anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos. Los anticuerpos comprenden al menos un dominio de unión a antígeno. Un ejemplo de un dominio de unión a antígeno es un dominio de unión a antígeno formado por un dímero  $V_H-V_L$ . Un "anticuerpo CD74" "anticuerpos anti-CD74", "CD74 Ab," "Anticuerpo específico de CD74" o "Ab anti-CD74" es un anticuerpo, como se describe en el presente documento, que se une específicamente al antígeno CD74.

Las regiones  $V_H$  y  $V_L$  pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad ("regiones hipervariables (HVR)"; también llamadas "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR)) intercaladas con regiones que están más conservadas. Las regiones más conservadas se denominan regiones marco (FR). Cada  $V_H$  y  $V_L$  comprende generalmente tres CDR y cuatro FR, dispuestas en el siguiente orden (desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal): FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. Las CDR están implicadas en la unión al antígeno y confieren especificidad de antígeno y afinidad de unión al anticuerpo. Véase Kabat y col., Sequences of Proteins of Immunological Interest 5<sup>a</sup> ed. (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD.

La cadena ligera de cualquier especie de vertebrado se puede asignar a uno de dos tipos, llamado kappa y lambda, basado en la secuencia del dominio constante.

La cadena pesada de cualquier especie de vertebrado se puede asignar a una de cinco clases (o isotipos) diferentes: IgA, IgD, IgE, IgG y IgM. Estas clases también se designan  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  y  $\mu$ , respectivamente. Las clases IgG e IgA se dividen además en subclases en función de las diferencias en la secuencia y la función. Los seres humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2.

Los límites de la secuencia de aminoácidos de una CDR pueden determinarlos un experto en la técnica utilizando cualquiera de varios esquemas de numeración conocidos, incluyendo las descritas por Kabat y col., citado anteriormente (esquema de numeración de "Kabat"); Al-Lazikani y col., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (esquema de numeración de "Chothia"); MacCallum y col., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (esquema de numeración de "Contact"); Lefranc y col., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (esquema de numeración "IMGT"); y Honegge y Plückthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (esquema de numeración "AHO").

La Tabla 1 proporciona las posiciones de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 según lo identificado por los esquemas de Kabat y Chothia. Para CDR-H1, la numeración de restos se proporciona utilizando los esquemas de numeración de Kabat y de Chothia. La figura 1 proporciona una comparación de los esquemas de numeración de Kabat y de Chothia para CDR-H1. Véase Martin (2010), citado anteriormente.

A menos que se especifique otra cosa, el esquema de numeración utilizado para la identificación de una CDR particular en el presente documento es el esquema de numeración de Kabat / Chothia. Cuando estos dos esquemas de numeración divergen, el esquema de numeración se especifica como Kabat o Chothia.

**Tabla 1.** Restos en las CDR según esquemas de numeración de Kabat y Chothia.

<b>CDR</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>
<b>L1</b>	L24-L34	L24-L34
<b>L2</b>	L50-L56	L50-L56
<b>L3</b>	L89-L97	L89-L97
<b>H1 (Numeración de Kabat)</b>	H31-H35B	H26-H32 o H34*
<b>H1 (Numeración de Chothia)</b>	H31-H35	H26-H32
<b>H2</b>	H50-H65	H52-H56
<b>H3</b>	H95-H102	H95-H102

\* El C-terminal de CDR-H1, cuando se numera usando la convención de numeración de Kabat, varía entre H32 y H34, dependiendo de la longitud de la CDR, tal como se ilustra en la FIG. 1.

El "esquema de numeración de la UE" o "índice de la UE" se usa generalmente cuando se hace referencia a un resto en una región constante de la cadena pesada del anticuerpo (por ejemplo, el índice de la UE informado en Kabat y col., citado anteriormente). A menos que se indique otra cosa, el esquema de numeración de la UE se utiliza para referirse a los restos en las regiones constantes de la cadena pesada de anticuerpos descritas en el presente documento.

Un "fragmento de anticuerpo" comprende una porción de un anticuerpo intacto, tal como la región de unión a antígeno o variable de un anticuerpo intacto. Los fragmentos de anticuerpos incluyen, por ejemplo, fragmentos Fv, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, fragmentos Fab', fragmentos scFv (sFv) y fragmentos scFv-Fc.

Los fragmentos "Fv" comprenden un dímero unido no covalentemente de un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.

Los fragmentos "Fab" comprenden, además de los dominios variables de la cadena pesada y ligera, el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (C<sub>H1</sub>) de la cadena pesada. Se pueden generar fragmentos Fab, por ejemplo, mediante digestión con papaína de un anticuerpo de longitud completa.

Los fragmentos "F(ab')<sub>2</sub>" contienen dos fragmentos Fab' unidos, cerca de la región bisagra, por enlaces disulfuro. Se pueden generar fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, por ejemplo, mediante digestión con pepsina de un anticuerpo intacto. Los fragmentos F(ab') se pueden disociar, por ejemplo, por tratamiento con β-mercaptoetanol.

Los fragmentos de anticuerpo "Fv de cadena sencilla" o "sFv" o "scFv" comprenden un dominio V<sub>H</sub> y un dominio V<sub>L</sub> en una cadena polipeptídica sencilla. V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> están generalmente unidas por un enlazador peptídico. Véase Plückthun A. (1994). Antibodies from Escherichia coli. En Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113 (pp. 269-315). Springer-Verlag, Nueva York. Los fragmentos "scFv-Fc" comprenden un scFv unido a un dominio Fc. Por ejemplo, se puede unir un dominio Fc al extremo C terminal del scFv. El dominio Fc puede seguir la V<sub>H</sub> o la V<sub>L</sub>, en función de la orientación de los dominios variables en el scFv (es decir, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> o V<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>). Se puede usar cualquier dominio Fc adecuado conocido en la técnica o descrito en el presente documento. En algunos casos, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG 1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 289).

El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos. Una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos comprende anticuerpos que son sustancialmente similares y que se unen al mismo epítipo (s), excepto las variantes que normalmente pueden surgir durante la producción del anticuerpo monoclonal. Dichas variantes están generalmente presentes en cantidades menores. Un anticuerpo monoclonal se obtiene normalmente mediante un proceso que incluye la selección de un solo anticuerpo de una pluralidad de anticuerpos. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un clon único de una pluralidad de clones, tal como un conjunto de clones de hibridoma, clones de fagos, clones de levadura, clones bacterianos u otros clones de ADN recombinante. El anticuerpo seleccionado se puede alterar más, por ejemplo, para mejorar la afinidad por el objetivo ("maduración de afinidad"), para humanizar el anticuerpo, para mejorar su producción en cultivo celular y / o reducir su inmunogenicidad en un sujeto.

La expresión "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que una porción de la cadena pesada y/o ligera procede de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera procede de una

fuerza o especie diferente.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada del anticuerpo no humano. Un anticuerpo humanizado es generalmente una inmunoglobulina humana (anticuerpo receptor) en la que los restos de una o más CDR se reemplazan por restos de una o más CDR de un anticuerpo no humano (anticuerpo donante). El anticuerpo donante puede ser cualquier anticuerpo no humano adecuado, tal como un anticuerpo de ratón, rata, conejo, pollo o primate no humano que tiene una especificidad, afinidad o efecto biológico deseados. En algunos casos, los restos de la región marco seleccionados del anticuerpo receptor se reemplazan por los residuos de la región marco correspondientes del anticuerpo donante. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender restos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Dichas modificaciones pueden hacerse para refinar aún más la función del anticuerpo. Para más detalles, véase Jones y col., *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann y col., *Nature*, 1988, 332:323-329; y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1992, 2:593-596.

15 Un "anticuerpo humano" es uno que posee una secuencia de aminoácidos correspondiente a la de un anticuerpo producido por una ser humano o célula humana o derivada de una fuente no humana que utiliza un repertorio de anticuerpos humanos o secuencias que codifican anticuerpos humanos (por ejemplo, obtenidos de fuentes humanas o diseñados *de novo*). Los anticuerpos humanos excluyen específicamente los anticuerpos humanizados.

20 Un "anticuerpo aislado" es uno que se ha separado y / o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes del entorno natural pueden incluir enzimas, hormonas y otros materiales proteicos o no proteicos. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado se purifica en un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de secuencia de aminoácidos N-terminal o interna, por ejemplo mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado se purifica hasta homogeneidad mediante electroforesis en gel (por ejemplo, SDS-PAGE) en condiciones reductoras o no reductoras, con detección con tinción de plata o azul de Coomassie. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no está presente. En algunos aspectos, un anticuerpo aislado se prepara por al menos una etapa de purificación.

30 En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado se purifica al menos al 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 99 % en peso. En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo aislado como una solución que comprende al menos el 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % a 100 % en peso de un anticuerpo, el resto del peso comprende el peso de otros solutos disueltos en el disolvente.

35 "Afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un solo sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su compañero de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique otra cosa, como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a afinidad de unión intrínseca, que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su compañero Y puede estar representada en general por la constante de disociación ( $K_D$ ). La afinidad puede medirse mediante procedimientos comunes conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento. La afinidad se puede determinar, por ejemplo, utilizando la tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR), tal como un instrumento Biacore®.

45 Con respecto a la unión de un anticuerpo a una molécula objetivo, las expresiones "unión específica", "se une específicamente a", "específico para", "unión selectiva", y "selectivo para" un antígeno particular (por ejemplo, un objetivo de polipéptido) o un epítipo en una unión media de antígeno particular que es mensurablemente diferente de una interacción no específica o no selectiva. La unión específica se puede medir, por ejemplo, determinando la unión de una molécula en comparación con la unión de una molécula de control. La unión específica también se puede determinar mediante la competencia con una molécula de control que es similar al objetivo, tal como un exceso de objetivo no marcado. En ese caso, la unión específica se indica si la unión del objetivo marcado a una sonda es inhibida de manera competitiva por el objetivo no marcado en exceso.

55 El término " $k_d$ " ( $s^{-1}$ ), como se usa en el presente documento, se refiere a la constante de la velocidad de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno concreta. Este valor también se conoce como el valor de  $k_{off}$ .

El término " $k_a$ " ( $M^{-1}xs^{-1}$ ), como se usa en el presente documento, se refiere a la constante de la velocidad de asociación de una interacción anticuerpo-antígeno concreta. Este valor también se conoce como el valor de  $k_{on}$ .

60 El término " $K_D$ " (M), como se usa en el presente documento, se refiere a la constante de equilibrio de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno concreta.  $K_D = k_d/k_a$ .

El término " $K_A$ " ( $M^{-1}$ ), como se usa en el presente documento, se refiere a la constante de equilibrio de asociación de una interacción anticuerpo-antígeno concreta.  $K_A = k_a/k_d$ .

65 Un anticuerpo "madurado por afinidad" es uno con una o más alteraciones en una o más CDR o FR que dan como resultado una mejora en la afinidad del anticuerpo por su antígeno, en comparación con un anticuerpo parental que

no posee la o las alteraciones. En una realización, un anticuerpo madurado por afinidad tiene afinidades nanomolares o picomolares por el antígeno diana. Los anticuerpos madurados por afinidad pueden producirse usando varios procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Marks y col., (Bio/Technology, 1992, 10: 779-783) describe la maduración por afinidad mediante la combinación aleatoria de dominios V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub>. La mutagénesis aleatoria de los restos CDR y/o estructurales se describe en, por ejemplo, Barbas y col., (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1994, 91:3809-3813); Schier y col., Gene, 1995, 169:147-155; Yelton y col., J. Immunol., 1995, 155:1994-2004; Jackson y col., J. Immunol., 1995, 154:3310-33199; y Hawkins et al, J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896.

Cuando se usa en el presente documento en el contexto de dos o más anticuerpos, el término "compite con" o "compite de forma cruzada con" indica que los dos o más anticuerpos compiten por unirse a un antígeno (por ejemplo, CD74). En un ensayo de ejemplo, CD74 se recubre en una placa y se deja unir un primer anticuerpo, reas lo cual se añade un segundo anticuerpo marcado. Si la presencia del primer anticuerpo reduce la unión del segundo anticuerpo, los anticuerpos compiten. El término "compite con" también incluye combinaciones de anticuerpos donde un anticuerpo reduce la unión de otro anticuerpo, pero donde no se observa competencia cuando los anticuerpos se añaden en el orden inverso. Sin embargo, en algunas realizaciones, el primer y el segundo anticuerpo inhiben la unión entre sí, independientemente del orden en que se añaden. En algunas realizaciones, un anticuerpo reduce la unión de otro anticuerpo a su antígeno en al menos un 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 % o al menos 90 %.

El término "epítipo" significa una porción de un antígeno capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítipos frecuentemente consisten en restos de aminoácidos accesibles a la superficie y / o cadenas laterales de azúcar y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se distinguen porque la unión a los primeros, pero no los últimos, se pierde en presencia de disolventes desnaturalizantes. Un epítipo puede comprender restos de aminoácidos que están directamente implicados en la unión, y otros restos de aminoácidos, que no están directamente implicados en la unión. El epítipo al que se une un anticuerpo se puede determinar usando técnicas conocidas para la determinación del epítipo, tales como, por ejemplo, prueba de unión de anticuerpos a variantes de CD74 con diferentes mutaciones puntuales.

El porcentaje de "identidad" entre una secuencia de polipéptidos y una secuencia de referencia, se define como el porcentaje de restos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos que son idénticos a los restos de aminoácidos en la secuencia de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de diversas maneras que están dentro de la experiencia de la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles públicamente, tales como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR) o CLUSTALW. Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros necesarios para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr un alineamiento máximo a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se comparan.

Una "sustitución conservadora" o una "sustitución conservadora de aminoácidos" se refiere a la sustitución de uno o más aminoácidos con uno o más aminoácidos química o funcionalmente similares. Las tablas de sustituciones conservadoras que proporcionan aminoácidos similares son bien conocidas en la técnica. Las secuencias de polipéptidos que tienen tales sustituciones se conocen como "variantes conservadoramente modificadas". Dichas variantes modificadas conservativamente son adicionales, y no excluyen, las variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos. A modo de ejemplo, los siguientes grupos de aminoácidos se consideran sustituciones conservadoras entre sí.

<b>Restos ácidos</b>	D y E
<b>Restos básicos</b>	K, R y H
<b>Restos hidrófilos no cargados</b>	S, T, N y Q
<b>Restos alifáticos no cargados</b>	G, A, V, L e I
<b>Restos no polares no cargados</b>	C, M y P
<b>Restos aromáticos</b>	F, Y y W

<b>Restos que contienen grupo alcohol</b>	S y T
<b>Restos alifáticos</b>	I, L, V y M
<b>Restos asociados a cicloalqueno</b>	F, H, W e Y
<b>Restos hidrófobos</b>	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W e Y
<b>Restos cargados negativamente</b>	D y E
<b>Restos polares</b>	C, D, E, H, K, N, Q, R, S y T
<b>Restos cargados positivamente</b>	H, K y R
<b>Restos pequeños</b>	A, C, D, G, N, P, S, T y V
<b>Restos muy pequeños</b>	A, G y S

(continuación)

<b>Restos implicados en la formación de giros</b>	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P y T
<b>Restos flexibles</b>	Q, T, K, S, G, P, D, E y R

<b>Grupo 1</b>	A, S y T
<b>Grupo 2</b>	D y E
<b>Grupo 3</b>	N y Q
<b>Grupo 4</b>	R y K
<b>Grupo 5</b>	I, L y M
<b>Grupo 6</b>	F, Y y W

<b>Grupo A</b>	A y G
<b>Grupo B</b>	D y E
<b>Grupo C</b>	N y Q
<b>Grupo D</b>	R, K y H
<b>Grupo E</b>	I, L, M, v
<b>Grupo F</b>	F, Y y W
<b>Grupo G</b>	S y T
<b>Grupo H</b>	C y M

5 Se pueden encontrar sustituciones conservadoras adicionales, por ejemplo, en Creighton, "*Proteins: Structures and Molecular Properties* 2ª ed. (1993) W. H. Freeman & Co., Nueva York, NY. Un anticuerpo generado al hacer una o más sustituciones conservadoras de restos de aminoácidos en un anticuerpo parental se denomina "variante conservadoramente modificada".

10 El término "aminoácido" se refiere a veinte aminoácidos comunes de origen natural. Los aminoácidos de origen natural incluyen alanina (Ala; A), arginina (Arg; R), asparragina (Asn; N), ácido aspártico (Asp; D), cisteína (Cys; C); ácido glutámico (Glu; E), glutamina (Gln; Q), Glicina (Gly; G); histidina (His; H), isoleucina (Ile; I), leucina (Leu; L), lisina (Lys; K), metionina (Met; M), fenilalanina (Phe; F), prolina (Pro; P), serina (Ser; S), treonina (Thr; T), triptófano (Trp; W), tirosina (Tyr; Y) y valina (Val; V).

15 "Tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere, en determinadas realizaciones, a mejorar una enfermedad o trastorno que existe en un sujeto. En otra realización, "tratar" o "tratamiento" incluye mejorar al menos un parámetro físico, que puede el sujeto no puede discernir. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" incluye modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible) o fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o ambos. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" incluye retrasar la aparición de la enfermedad o trastorno.

20 Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad de un anticuerpo o composición que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para prevenir o mejorar una enfermedad o la progresión de la enfermedad, o dar como resultado la mejora de los síntomas.

30 Como se usa en el presente documento, el término "inhibe el crecimiento" (por ejemplo, refiriéndose a las células, como las células tumorales) pretende incluir cualquier disminución mensurable en el crecimiento celular cuando se pone en contacto con un anticuerpo CD74, en comparación con el crecimiento de las mismas células que no están en contacto con un anticuerpo CD74. En algunas realizaciones, el crecimiento puede ser inhibido por al menos aproximadamente un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 99 % o 100 %. La disminución en el crecimiento celular puede producirse mediante diversos mecanismos, incluyendo, pero sin limitaciones, la internalización de anticuerpos, apoptosis, necrosis y / o actividad mediada por la función efectora.

35 Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" significa un sujeto mamífero. Los sujetos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, seres humanos, monos, perros, gatos, ratones, ratas, vacas, caballos, cabras y ovejas. En determinadas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto tiene cáncer, una enfermedad o afección inflamatoria, o una enfermedad o afección autoinmunitaria, que puede tratarse con un anticuerpo proporcionado en el presente documento. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene o se sospecha que tiene cáncer, una enfermedad o afección inflamatoria o una enfermedad o afección autoinmunitaria.

## 2. Anticuerpos

45 En el presente documento se proporcionan anticuerpos que se unen selectivamente a CD74 humano. En algunos aspectos, el anticuerpo se une selectivamente a la isoforma 1 de CD74 humano. En algunos aspectos, el anticuerpo se une selectivamente a la isoforma 2 de CD74 humano. En algunos aspectos, el anticuerpo puede unirse



selectivamente a más de una isoforma de CD74, por ejemplo, ambas isoformas CD74 humano, 1 y 2. En algunos aspectos, el anticuerpo se puede unir de forma selectiva a una o más isoformas de CD74 con el mismo dominio extracelular que las isoformas 1 y 2, tales como p41 y p33, respectivamente.

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a homólogos de CD74 humano. En algunos aspectos, el anticuerpo se une a un homólogo de CD74 humano de una especie seleccionada de monos, perros, gatos, ratones, ratas, vacas, caballos, cabras y ovejas. En algunos aspectos, el homólogo es un homólogo de mono cynomolgus.

10 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una o más CDR que tienen longitudes concretas, en términos del número de restos de aminoácidos. En algunos aspectos, la CDR-H1 de Chothia del anticuerpo tiene siete restos de longitud. En algunas realizaciones, la CDR-H1 de Chothia del anticuerpo tiene cinco restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-H2 de Kabat del anticuerpo tiene seis restos de longitud. En algunas realizaciones, la CDR-H2 de Kabat del anticuerpo tiene diecisiete restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-H3 de Chothia/Kabat del anticuerpo tiene once restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-H3 de Chothia/Kabat del anticuerpo tiene trece restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-H3 de Chothia/Kabat del anticuerpo tiene catorce restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-H3 de Chothia/Kabat del anticuerpo no tiene quince restos de longitud.

20 En algunos aspectos, la CDR-L1 de Kabat/ Chothia del anticuerpo tiene once restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-L1 de Kabat/ Chothia del anticuerpo tiene doce restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-L2 de Kabat/ Chothia del anticuerpo tiene siete restos de longitud. En algunos aspectos, la CDR-L3 de Kabat/ Chothia del anticuerpo tiene nueve restos de longitud.

25 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera. En algunos aspectos, la cadena ligera se selecciona de una cadena ligera kappa y una cadena ligera lambda.

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada. En algunos aspectos, la cadena pesada se selecciona de IgA, IgD, IgE, IgG y IgM. En algunos aspectos, la cadena pesada se selecciona de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo se selecciona de un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fab', un fragmento scFv (sFv) y un fragmento scFv-Fc.

40 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

45 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo madurado por afinidad. En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo madurado por afinidad derivado de una secuencia ilustrativa proporcionada en la presente divulgación.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es internalizado por una célula después de la unión.

50 En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibe la unión de CD74 a sus ligandos. En algunos aspectos, el anticuerpo inhibe la unión de CD74 al factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF).

Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden ser útiles para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones, incluyendo cáncer, enfermedades autoinmunitarias, infección e inflamación.

## 2.1. Secuencias de CDR-H3

55 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 129-156. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 129. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 130. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 131. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 132. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 133. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 134. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 135. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 136. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3

que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 137. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 138. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 139. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 140. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 141. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 142. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 143. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 144. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 145. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 146. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 147. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 148. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 149. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 150. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 151. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 152. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 153. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 154. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 155. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 156.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H3 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 157-160. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 157. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 158. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 159. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 160.

## 2.2. Secuencias de $V_H$ que comprenden CDR ilustrativas

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una o más secuencias de CDR-H que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una o más secuencias de CDR-H ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, y variantes de las mismas.

### 2.2.1. Secuencias de $V_H$ que comprenden CDR de Kabat ilustrativas

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una o más secuencias de CDR-H de Kabat que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una o más secuencias de CDR-H de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, y variantes de las mismas.

#### 2.2.1.1. CDR-H3 de Kabat

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una secuencia de CDR-H3 de Kabat, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 129-156. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una secuencia de CDR-H3 de Kabat, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 129. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una secuencia de CDR-H3 de Kabat, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 130. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una secuencia de CDR-H3 de Kabat, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 131. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una secuencia de CDR-H3 de Kabat, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la







En algunos ejemplos, las secuencias de  $V_H$  proporcionadas en el presente documento comprenden una variante de una secuencia de CDR-L3 de Kabat, CDR-H2 y/o CDR-H1 proporcionada en la presente divulgación.

5 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H3 de Kabat ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H3 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H3 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1, 2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

15 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H2 de Kabat ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H2 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H2 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1, 2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

25 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H1 de Kabat ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H1 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H1 de Kabat ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1, 2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

30

#### **2.2.1.9. Secuencias de $V_H$ excluidas que comprenden CDR de Kabat**

35 En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_H$  proporcionadas en el presente documento no comprenden ciertas secuencias de CDR-H3, CDR-H2 y / o CDR-H1 de Kabat.

40 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 157-160. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 157. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 158. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 159. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 160.

45 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 125-128. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 125. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 126. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 127. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 128.

50 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 61-64. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 61. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 62. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 63. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Kabat no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 64.

#### **2.2.2. Secuencias de $V_H$ que comprenden CDR de Chothia ilustrativas**

60 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_H$  que comprende una o más secuencias de CDR- H de Chothia, que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una o más secuencias de CDR-H de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, y variantes de las mismas.

65

##### **2.2.2.1. CDR-H3 de Chothia**









1-28, una secuencia de CDR-H2 de Chothia que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 65-92 y una secuencia de CDR-H3 de Chothia, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 129-156. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia, la secuencia de CDR-H2 de Chothia y la secuencia de CDR-H3 de Chothia proceden todas de una sola secuencia de  $V_H$  ilustrativa proporcionadas en la presente divulgación. Por ejemplo, en algunos ejemplos, la CDR- H1 de Chothia, CDR-H2 de Chothia y CDR-H3 de Chothia proceden todas una sola secuencia  $V_H$  ilustrativa seleccionada de las SEQ ID NO: 230-251 y 273-280.

#### 2.2.2.8. Variantes de las secuencias de $V_H$ que comprenden CDR ilustrativas de Chothia

En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_H$  proporcionadas en el presente documento comprenden una variante de una secuencia de CDR-L3 de Chothia ilustrativa, CDR-H2 y/o CDR-H1 proporcionada en la presente divulgación.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H3 de Chothia ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H3 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H3 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H2 de Chothia ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H2 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H2 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H1 de Chothia ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H1 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H1 de Chothia ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

#### 2.2.2.9. Secuencias de $V_H$ excluidas que comprenden CDR de Chothia

En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_H$  proporcionadas en el presente documento no comprenden ciertas secuencias de CDR-H3 de Chothia, CDR-H2 y / o CDR-H1 de Kabat.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 157-160. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 157. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 158. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 159. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 160.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 93-96. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 93. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 94. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 95. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H2 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 96.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 29-32. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 29. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 30. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID

NO: 31. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H1 de Chothia no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 32.

### 2.3. Secuencias de V<sub>H</sub>

5 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 230-251 y 273-280. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 230. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o  
10 consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 231. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 232. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 233. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 234. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que  
15 comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 235. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 236. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 237. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 238. En algunos aspectos, el anticuerpo  
20 comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 239. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 240. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 241. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 242. En  
25 algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 243. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 244. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 245. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 246. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que  
30 comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 247. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 248. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 249. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 250. En algunos ejemplos, el anticuerpo  
35 comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 251. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 273. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 274. En algunos ejemplos, el anticuerpo  
40 comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 275. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 276. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 277. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 278. En  
45 algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 279. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de V<sub>H</sub> que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 280.

#### 2.3.1. Variantes de las secuencias de V<sub>H</sub>

50 En algunas realizaciones, las secuencias de V<sub>H</sub> proporcionadas en el presente documento comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una variante de una secuencia de V<sub>H</sub> ilustrativa proporcionada en la presente divulgación.

55 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de V<sub>H</sub> ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, un 99 % o un 99,1 % de identidad con cualquiera de las secuencias de V<sub>H</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste  
60 esencialmente en cualquiera de las secuencias de V<sub>H</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1-25 sustituciones de aminoácidos, 1-20 sustituciones de aminoácidos, 1-15 sustituciones de aminoácidos, 1-10 sustituciones de aminoácidos, 1-5 sustituciones de aminoácidos, 1-3 sustituciones de aminoácidos, 1-2 sustituciones de aminoácidos o 1 sustitución de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

65

#### 2.3.2. Secuencias de V<sub>H</sub> excluidas

En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_H$  proporcionadas en el presente documento no comprenden determinadas secuencias de  $V_H$ .

- 5 En algunos aspectos, la secuencia de  $V_H$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 252-255. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_H$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 252. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_H$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 253. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_H$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 254. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_H$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 255.

## 2.4. Secuencias de CDR-L3

- 15 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 201-219. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 201. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 202. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 203. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 204. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 205. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 206. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 207. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 208. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 209. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 210. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 211. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 212. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 213. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 214. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 215. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 216. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 217. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 218. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 219.

- En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-L3 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

- En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 220.

## 2.5. Secuencias de $V_L$ que comprenden CDR ilustrativas

- En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende una o más secuencias de CDR-L que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una o más secuencias ilustrativas de CDR-L proporcionadas en la presente divulgación, y variantes de las mismas.

### 2.5.1. CDR-L3

- En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende una secuencia de CDR-L3, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 201-219. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende una secuencia de CDR-L3, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 201. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende una secuencia de CDR-L3, que comprende, consiste en o consiste





256-270 y 281-288.

### 2.5.7. CDR-L1 + CDR-L2 + CDR-L3

5 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende una secuencia de CDR-L1, que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 161-179, una  
 10 secuencia de CDR-L2 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 181-199 y una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 201-219. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L1, la secuencia de  
 15 CDR-L2 y la secuencia de CDR-L3 proceden todas de una secuencia sencilla de  $V_L$  ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. Por ejemplo, en algunos ejemplos, las CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 proceden todas de una secuencia sencilla de  $V_L$  ilustrativa seleccionada de las SEQ ID NO: 256-270 y 281-288.

### 2.5.8. Variantes de las secuencias de $V_L$ que comprenden CDR-L ilustrativas

15 En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_L$  proporcionadas en el presente documento comprenden una variante de una secuencia de CDR-L3, CDR- L2 y/o CDR-L1 proporcionada en la presente divulgación.

20 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-L3 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o  
 25 consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

30 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L2 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-L2 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L2 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-L2 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L2 comprende, consiste en o  
 35 consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-L2 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

40 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L1 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-L1 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L1 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-L1 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L1 comprende, consiste en o  
 45 consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-L1 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

### 2.5.9. Secuencias de $V_L$ excluidas que comprenden CDR-L

50 En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_L$  proporcionadas en el presente documento no comprenden determinadas secuencias de CDR-L3, CDR-L2 y / o CDR-L1 de Kabat.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L3 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 220.

55 En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L2 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 200.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L1 no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 180.

### 2.6. Secuencias de $V_L$

60 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 256-270 y 281-288. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 256. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste  
 65 esencialmente en la SEQ ID NO: 257. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que

comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 258. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 259. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 260. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 261. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 262. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 263. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 264. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 265. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 266. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 267. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 268. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 269. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 270. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 281. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 282. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 283. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 284. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 285. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 286. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 287. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de  $V_L$  que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 288.

### 2.6.1. Variantes de las secuencias de $V_L$

En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_L$  proporcionadas en el presente documento comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una variante de una secuencia de  $V_L$  ilustrativa proporcionada en la presente divulgación.

En algunos aspectos, la secuencia de  $V_L$  comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de  $V_L$  ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de  $V_L$  comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, un 99 % o un 99,05 % de identidad con cualquiera de las secuencias de  $V_L$  ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de  $V_L$  comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de  $V_L$  ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1-25 sustituciones de aminoácidos, 1-20 sustituciones de aminoácidos, 1-15 sustituciones de aminoácidos, 1-10 sustituciones de aminoácidos, 1-5 sustituciones de aminoácidos, 1-3 sustituciones de aminoácidos, 1-2 sustituciones de aminoácidos o 1 sustitución de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

### 2.6.2. Secuencias de $V_L$ excluidas

En algunas realizaciones, las secuencias de  $V_L$  proporcionadas en el presente documento no comprenden determinadas secuencias de  $V_L$ .

En algunos aspectos, la secuencia de  $V_L$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 271-272. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_L$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 271. En algunos aspectos, la secuencia de  $V_L$  no comprende, consiste en o consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 272.

## 2.7. Pares

### 2.7.1. Pares CDR-H3 - CDR-L3

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 y una secuencia de CDR-L3. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 forma parte de una  $V_H$  y la secuencia de CDR-L3 forma parte de una  $V_L$ .

En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 es una secuencia de CDR-H3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en las SEQ ID NO: 129-156 y la secuencia de CDR-L3 es una secuencia de CDR-L3 que comprende, consiste en o consiste esencialmente en las SEQ ID NO: 201-219.













la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 210. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 211. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 212. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 213. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 214. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 215. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 216. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 217. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 218. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 219.

En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 es la SEQ ID NO: 153 y la secuencia de CDR-L3 se selecciona de las SEQ ID NO: 201-219. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 201. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 202. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 203. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 204. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 205. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 206. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 207. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 208. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 209. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 210. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 211. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 212. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 213. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 214. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 215. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 216. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 217. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 218. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 219.

En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 es la SEQ ID NO: 154 y la secuencia de CDR-L3 se selecciona de las SEQ ID NO: 201-219. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 201. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 202. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 203. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 204. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 205. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 206. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 207. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 208. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 209. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 210. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 211. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 212. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 213. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 214. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 215. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 216. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 217. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 218. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 es la SEQ ID NO: 219.

#### 2.7.1.1. Variantes de los pares CDR-H3 - CDR-L3

En algunas realizaciones, los pares de CDR-H3 - CDR-L3 proporcionados en el presente documento comprenden una variante de una secuencia de CDR- H3 ay/o CDR-L1 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-H3 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-H3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-H3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-H3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de CDR-L3 ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, un 90 % o un 95 % de identidad con cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de CDR-L3 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de CDR-L3 ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1,2 o 3 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

#### 2.7.1.2. Pares CDR-H3 - CDR-L3 excluidos

En algunas realizaciones, los pares CDR-H3 - CDR-L3 proporcionados en el presente documento comprenden ciertos pares CDR-H3 - CDR- L3.

En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no es la SEQ ID NO: 157, y la secuencia de CDR-L3 no es la SEQ ID NO: 220. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no es la SEQ ID NO: 158, y la secuencia de CDR-L3 no es la SEQ ID NO: 220. En algunos aspectos, la secuencia de CDR-H3 no es la SEQ ID NO: 159, y la secuencia de



















**2.7.2.1. Variantes de los pares V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub>**

En algunas realizaciones, los pares V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub> proporcionados en el presente documento comprenden una variante de una secuencia de V<sub>H</sub> y/o V<sub>L</sub> ilustrativa proporcionada en la presente divulgación.

5 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de V<sub>H</sub> ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, un 99 % o un 99,1 % de identidad con cualquiera de las secuencias de V<sub>H</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>H</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de V<sub>H</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1-25 sustituciones de aminoácidos, 1-20 sustituciones de aminoácidos, 1-15 sustituciones de aminoácidos, 1-10 sustituciones de aminoácidos, 1-5 sustituciones de aminoácidos, 1-3 sustituciones de aminoácidos, 1-2 sustituciones de aminoácidos o 1 sustitución de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

15 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una variante de una secuencia de V<sub>L</sub> ilustrativa proporcionada en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>L</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en una secuencia que tiene al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, un 99 % o un 99,05 % de identidad con cualquiera de las secuencias de V<sub>L</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación. En algunos ejemplos, la secuencia de V<sub>L</sub> comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las secuencias de V<sub>L</sub> ilustrativas proporcionadas en la presente divulgación, con 1-25 sustituciones de aminoácidos, 1-20 sustituciones de aminoácidos, 1-15 sustituciones de aminoácidos, 1-10 sustituciones de aminoácidos, 1-5 sustituciones de aminoácidos, 1-3 sustituciones de aminoácidos, 1-2 sustituciones de aminoácidos o 1 sustitución de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

**2.7.2.2. Pares V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub> excluidos**

30 En algunas realizaciones, los pares V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub> proporcionados en el presente documento no comprenden determinados pares V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub>.

35 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 252-255 y la secuencia de V<sub>L</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 271-272.

En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> no es la SEQ ID NO: 252 y la secuencia de V<sub>L</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 271-272. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 271. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 272.

40 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> no es la SEQ ID NO: 253 y la secuencia de V<sub>L</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 271-272. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 271. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 272.

45 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> no es la SEQ ID NO: 254 y la secuencia de V<sub>L</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 271-272. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 271. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 272.

50 En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>H</sub> no es la SEQ ID NO: 255 y la secuencia de V<sub>L</sub> no se selecciona de las SEQ ID NO: 271-272. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 271. En algunos aspectos, la secuencia de V<sub>L</sub> no es la SEQ ID NO: 272.

**2.8. Secuencias consenso**

55 En ejemplos particulares, proporcionadas en el presente documento son anticuerpos anti-CD74 que comprenden una o más secuencias consenso. Cada secuencia consenso se basa, al menos en parte, en una o más alineaciones de dos o más secuencias de CDR anti-CD74 útiles proporcionadas en la presente divulgación. Según dichas alineaciones, un experto en la materia reconocería que diferentes restos de aminoácidos pueden ser útiles en ciertas posiciones de las CDR. En consecuencia, cada secuencia consenso abarca dos o más secuencias de CDR anti-CD74 útiles.

**2.8.1. Secuencias consenso de CDR-H3**

60 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 definida por la secuencia consenso G-G-α<sub>3</sub>-α<sub>4</sub>-α<sub>5</sub>-α<sub>6</sub>-α<sub>7</sub>-α<sub>8</sub>-α<sub>9</sub>-α<sub>10</sub>-G-α<sub>12</sub>-D-V, donde: α<sub>3</sub> es T, S, Q, M o A; α<sub>4</sub> es R, L o V; α<sub>5</sub> es V, E, A, G, I, D o M; α<sub>6</sub> es R, L, H, G, Q o T; α<sub>7</sub> es G o R; α<sub>8</sub> es A, L, E o G; α<sub>9</sub> es V, I, M, F, R o L; α<sub>10</sub> es Y, H, F o S; y α<sub>12</sub> es T, L, H o N.

En algunos ejemplos, si  $\alpha_9$  es M,  $\alpha_3$  no es T,  $\alpha_4$  no es L,  $\alpha_5$  no es V,  $\alpha_6$  no es R,  $\alpha_7$  no es G,  $\alpha_8$  no es A,  $\alpha_{10}$  no es Y,  $\alpha_{12}$  no es T, o combinaciones de los mismos.

En algunos ejemplos,  $\alpha_9$  es V, I, F, R o L.

5

En algunos ejemplos,  $\alpha_6$  es L, H, G, Q o T.

En algunos ejemplos,  $\alpha_3$  no es T. En algunos ejemplos,  $\alpha_4$  no es L. En algunos ejemplos,  $\alpha_5$  no es V. En algunos ejemplos,  $\alpha_6$  no es R. En algunos ejemplos,  $\alpha_7$  no es G. En algunos ejemplos,  $\alpha_8$  no es A. En algunos ejemplos,  $\alpha_9$  no es M. En algunos ejemplos,  $\alpha_{10}$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\alpha_{12}$  no es T.

10

### 2.8.2. Secuencias consenso de CDR-H2 de Chothia

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 de Chothia definida por la secuencia consenso  $\beta_1$ - $\beta_2$ -D- $\beta_4$ -S- $\beta_6$ , donde:  $\beta_1$  es W o S;  $\beta_2$  es Y, D o H;  $\beta_4$  es G o A; y  $\beta_6$  es N, I, D, H, K o R.

15

En algunos ejemplos,  $\beta_1$  es W.

En algunos ejemplos,  $\beta_6$  es I.

20

En algunos ejemplos,  $\beta_1$  no es S. En algunos ejemplos,  $\beta_2$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\beta_4$  no es G. En algunos ejemplos,  $\beta_6$  no es N o I.

### 2.8.3. Secuencias consenso de CDR-H1 de Chothia

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 de Chothia definida por la secuencia consenso G-F- $\delta_3$ -F- $\delta_5$ - $\delta_6$ - $\delta_7$ , donde:  $\delta_3$  es T, N, S, A o D;  $\delta_5$  es S, G, D o A;  $\delta_6$  es S o D; y  $\delta_7$  es Y, H o F.

25

En algunos ejemplos,  $\delta_3$  es N, S, A o D.

30

En algunos ejemplos,  $\delta_3$  no es T. En algunos ejemplos,  $\delta_5$  no es S. En algunos ejemplos,  $\delta_6$  no es S. En algunos ejemplos,  $\delta_7$  no es Y.

### 2.8.4. Secuencias de consenso de CDR-H2 de Kabat

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 de Kabat definida por la secuencia consenso V- $\gamma_2$ - $\gamma_3$ - $\gamma_4$ -D- $\gamma_6$ -S- $\gamma_8$ - $\gamma_9$ - $\gamma_{10}$ -Y-A- $\gamma_{13}$ -S-V-K-G, donde:  $\gamma_2$  es I, T o V;  $\gamma_3$  es W o S;  $\gamma_4$  es Y, D o H;  $\gamma_6$  es G o A;  $\gamma_8$  es N, I, D, H, K o R;  $\gamma_9$  es K, E, R, S, T o D;  $\gamma_{10}$  es Y, I, V, K o N; y  $\gamma_{13}$  es D o G.

35

En algunos ejemplos,  $\gamma_9$  es E, R, S, T o D.

40

En algunos ejemplos,  $\gamma_2$  no es I. En algunos ejemplos,  $\gamma_3$  no es S o W. En algunos ejemplos,  $\gamma_4$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\gamma_6$  no es G. En algunos ejemplos,  $\gamma_8$  no es N o I. En algunos ejemplos,  $\gamma_9$  is not K. En algunos ejemplos,  $\gamma_{10}$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\gamma_{13}$  no es D.

45

En algunos ejemplos, EL anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 de Kabat definida por la secuencia consenso V- $\sigma_2$ -W- $\sigma_4$ -D- $\sigma_6$ -S- $\sigma_8$ - $\sigma_9$ - $\sigma_{10}$ -Y-A- $\sigma_{13}$ -S-V-K-G, donde:  $\sigma_2$  es I, T o V;  $\sigma_4$  es Y, D o H;  $\sigma_6$  es G o A;  $\sigma_8$  es N, I, D, H, K o R;  $\sigma_9$  es K, E, R, S, T o D;  $\sigma_{10}$  es Y, I, V, K o N; y  $\sigma_{13}$  es D o G.

50

En algunos ejemplos, si  $\sigma_2$  es I,  $\sigma_4$  no es Y,  $\sigma_6$  no es G,  $\sigma_8$  no es N,  $\sigma_9$  no es K,  $\sigma_{10}$  no es Y,  $\sigma_{13}$  no es D, o combinaciones de los mismos.

En algunos ejemplos,  $\sigma_2$  is not I. En algunos ejemplos,  $\sigma_3$  no es S o W. En algunos ejemplos,  $\sigma_4$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\sigma_6$  no es G. En algunos ejemplos,  $\sigma_8$  is not N or I. En algunos ejemplos,  $\sigma_9$  is not K. En algunos ejemplos,  $\sigma_{10}$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\sigma_{13}$  no es D.

55

### 2.8.5. Secuencias de consenso de CDR-H1 de Kabat

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 de Kabat definida por la secuencia consenso  $\epsilon_1$ - $\epsilon_2$ - $\epsilon_3$ -M-H, donde:  $\epsilon_1$  es S o D;  $\epsilon_2$  es Y, H o F; y  $\epsilon_3$  es G o A.

60

En algunos ejemplos,  $\epsilon_1$  es D.

En algunos ejemplos,  $\epsilon_1$  no es S. En algunos ejemplos,  $\epsilon_2$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\epsilon_3$  no es A o G.

65

### 2.8.6. Secuencias consenso de CDR-L3

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 definida por la secuencia consenso Q- $\Theta_2$ - $\Theta_3$ - $\Theta_4$ - $\Theta_5$ - $\Theta_6$ -P- $\Theta_8$ -T, donde:  $\Theta_2$  es Q o H;  $\Theta_3$  es Y, H, Q o N;  $\Theta_4$  es N, Y, Q, H o C;  $\Theta_5$  es T, S, I, Y, P, L o A;  $\Theta_6$  es Y, T, W o A; y  $\Theta_8$  es L o P.

5 En algunos ejemplos,  $\Theta_5$  es T, I, Y, P, L o A.

En algunos ejemplos,  $\Theta_2$  is not Q. En algunos ejemplos,  $\Theta_3$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\Theta_4$  is not N. En algunos ejemplos,  $\Theta_5$  no es S. En algunos ejemplos,  $\Theta_6$  no es Y. En algunos ejemplos,  $\Theta_8$  no es L.

### 10 2.8.7. Secuencias consenso de CDR-L2

En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 definida por la secuencia consenso  $\pi_1$ - $\pi_2$ - $\pi_3$ - $\pi_4$ - $\pi_5$ - $\pi_6$ - $\pi_7$ , donde:  $\pi_1$  es G, A, L, S, o N;  $\pi_2$  es A, S, G o R;  $\pi_3$  es S, D, T, N o R;  $\pi_4$  es S, R, Y, Q o L;  $\pi_5$  es L o R;  $\pi_6$  es Q o A; y  $\pi_7$  es S, T o I.

En algunos ejemplos,  $\pi_7$  es S.

20 En algunos ejemplos,  $\pi_1$  no es A. En algunos ejemplos,  $\pi_2$  no es A. En algunos ejemplos,  $\pi_3$  no es S. En algunos ejemplos,  $\pi_4$  no es S. En algunos ejemplos,  $\pi_5$  no es L. En algunos ejemplos,  $\pi_6$  is not Q. En algunos ejemplos,  $\pi_7$  no es S.

### 2.8.8. Secuencias consenso de CDR-L1

25 En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 definida por la secuencia consenso R-A- $\mu_3$ -Q- $\mu_5$ - $\mu_6$ - $\mu_7$ - $\mu_8$ - $\mu_9$ - $\mu_{10}$ - $\mu_{11}$ - $\mu_{12}$ , donde:  $\mu_3$  es S o G;  $\mu_5$  es G, S, D o R;  $\mu_6$  es V, Yo o I;  $\mu_7$  es S, G, F, A o Y;  $\mu_8$  es S, R o G;  $\mu_9$  es S, I, N, R, o nada (es decir, no presente);  $\mu_{10}$  es W, Y, F, E o D;  $\mu_{11}$  es L o V; y  $\mu_{12}$  es A, S o G.

30 En algunos ejemplos,  $\mu_7$  es G, F, A o Y.

En algunos ejemplos,  $\mu_3$  no es S. En algunos ejemplos,  $\mu_5$  no es G. En algunos ejemplos,  $\mu_6$  no es I. En algunos ejemplos,  $\mu_7$  no es S. En algunos ejemplos,  $\mu_8$  no es S. En algunos ejemplos,  $\mu_9$  está presente. En algunos ejemplos,  $\mu_{10}$  no es W. En algunos ejemplos,  $\mu_{11}$  no es L. En algunos ejemplos,  $\mu_{12}$  no es A.

## 35 3. Termoestabilidad

En algunas realizaciones, el anticuerpo se caracteriza por parámetros de termoestabilidad particulares. Como se describe en el Ejemplo 16, la termoestabilidad de un anticuerpo puede caracterizarse midiendo sus temperaturas de fusión. Las temperaturas de fusión incluyen Tm1 y Tm2. Tm1 representa la fusión del dominio Fc de una IgG, mientras que Tm2 representa la fusión del dominio Fab de una IgG.

45 En algunas realizaciones, la Tm2 del anticuerpo es de al menos 75 °C, 75,5 °C, 76 °C, 76,5 °C, 77 °C, 77,5 °C, 78 °C, 78,5 C o 79 °C. En algunas realizaciones, la Tm2 del anticuerpo está entre aproximadamente 75 °C y aproximadamente 80 C. En algunas realizaciones, la Tm2 del anticuerpo está entre aproximadamente 76 °C y aproximadamente 79 °C. En algunas realizaciones, la Tm2 del anticuerpo está entre aproximadamente 77 °C y aproximadamente 78 °C. En algunos aspectos, las Tm2 descritas anteriormente son para versiones aglicosiladas del anticuerpo.

50 En algunas realizaciones, la Tm1 del anticuerpo está entre aproximadamente 59 °C y aproximadamente 62,2 °C. En algunas realizaciones, la Tm1 del anticuerpo es inferior a 62,2 °C. En algunas realizaciones, la Tm1 del anticuerpo es inferior a 61°C. En algunas realizaciones, la Tm1 del anticuerpo es inferior a 60 °C. En algunos aspectos, las Tm1 descritas anteriormente son para versiones aglicosiladas del anticuerpo.

## 55 4. Afinidad

En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo por CD74, como viene indicada por la  $K_D$ , es inferior a aproximadamente  $10^{-5}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-6}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-7}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-8}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-9}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-10}$  M, inferior a aproximadamente  $10^{-11}$  M, o inferior a aproximadamente  $10^{-12}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-7}$  M y  $10^{-11}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-7}$  M y  $10^{-10}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-7}$  M y  $10^{-9}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-7}$  M y  $10^{-8}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-8}$  M y  $10^{-11}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-9}$  M y  $10^{-11}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $10^{-10}$  M y  $10^{-11}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $1,08 \times 10^{-7}$  M y  $9,57 \times 10^{-10}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del



anticuerpo es  $2,52 \times 10^{-10}$  M, o menos. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de aproximadamente  $2,52 \times 10^{-10}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de aproximadamente  $3,54 \times 10^{-10}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo está entre aproximadamente  $2,52 \times 10^{-10}$  M y aproximadamente  $3,54 \times 10^{-10}$  M. En algunos aspectos, la  $K_D$  se determina a 25 °C.

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de al menos aproximadamente  $10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de al menos aproximadamente  $10^6$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de entre aproximadamente  $10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$  y aproximadamente  $10^6$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de entre aproximadamente  $1,66 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$  y aproximadamente  $1,07 \times 10^6$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de aproximadamente  $3,09 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$ , o más. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de aproximadamente  $3,09 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  de aproximadamente  $3,38 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_a$  entre aproximadamente  $3,09 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$  y aproximadamente  $3,38 \times 10^5$   $M^{-1}Xs^{-1}$ . En algunos aspectos, la  $k_a$  se determina a 25 °C.

15 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de aproximadamente  $10^{-4}$  segundos $^{-1}$  o menos. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de aproximadamente  $10^{-5}$  segundos $^{-1}$  o menos. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de entre aproximadamente  $10^{-4}$  segundos $^{-1}$  y aproximadamente  $10^{-5}$  segundos $^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de entre aproximadamente  $2,35 \times 10^{-4}$  s $^{-1}$  y aproximadamente  $7,10 \times 10^{-5}$  s $^{-1}$ .  
20 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de aproximadamente  $7,77 \times 10^{-5}$  segundos $^{-1}$  o menos. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de aproximadamente  $7,77 \times 10^{-5}$  segundos $^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  de aproximadamente  $1,20 \times 10^{-4}$  sec $^{-1}$ . En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $k_d$  entre aproximadamente  $1,20 \times 10^{-4}$  s $^{-1}$  y aproximadamente  $7,77 \times 10^{-5}$  s $^{-1}$ . En algunos aspectos, la  $k_d$  se determina a 25 °C.

25

#### 5. $CI_{50}$ en el ensayo de conjugado de anticuerpo-secundario-fármaco (ADC)

En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una  $CI_{50}$  en un ensayo de destrucción celular con conjugado de anticuerpo secundario-fármaco (ADC), tal como se describe en el Ejemplo 5. En algunas realizaciones, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 1 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,5 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,25 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,1 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,05 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,025 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,009 nM. En algunos aspectos, la  $CI_{50}$  es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,005 nM.

#### 6. Variantes de glucosilación

40 En determinadas realizaciones, un anticuerpo puede alterarse para aumentar, disminuir o eliminar el grado en que está glicosilado. Normalmente, la glucosilación de polipéptidos es "ligada a N" o "ligada a O".

Glucosilación ligada a N se refiere a la unión de un resto hidrocarburo a la cadena lateral de un resto de asparagina. Las secuencias de tripéptido asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en las que X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tripéptido en un polipéptido crea un sitio de glucosilación potencial.

50 La glucosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un ácido hidroxiamino, más habitualmente serina o treonina, aunque también pueden utilizarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición o delección de sitios de glucosilación ligada a N al anticuerpo se puede lograr alterando la secuencia de aminoácidos de manera que se cree o elimine una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente.

55 La adición o delección de sitios de glucosilación ligada a O se puede lograr mediante la adición, delección o sustitución de uno o más restos de serina o treonina en o a (según sea el caso) la secuencia de un anticuerpo.

#### 7. Variantes de Fc

60 En determinadas realizaciones, se pueden introducir modificaciones de aminoácidos en la región Fc de un anticuerpo proporcionado en este documento para generar una variante de la región Fc. En determinadas realizaciones, la variante de la región Fc posee algunas, pero no todas, funciones efectoras. Tales anticuerpos pueden ser útiles, por ejemplo, en aplicaciones en las que la semivida del anticuerpo *in vivo* es importante, sin embargo, ciertas funciones efectoras son innecesarias o perjudiciales. Los ejemplos de funciones efectoras incluyen citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y citotoxicidad mediada por el complemento dirigida por anticuerpos (ADCC). En la técnica se conocen numerosas sustituciones o delecciones con función

65

efectora alterada.

Se puede confirmar una alteración en la actividad de CDC y / o ADCC usando ensayos *in vitro* y / o *in vivo*. Por ejemplo, se pueden realizar ensayos de unión al receptor Fc (FcR) para medir la unión a FcγR. Las células primarias para mediar en la ADCC, linfocitos NK, expresan FcγRIII solamente, mientras que los monocitos expresan, FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en Ravetch y Kinet, *Ann. Rev. Immunol.*, 1991, 9:457-492.

Los ejemplos no limitantes de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad ADCC de una molécula de interés se proporcionan en las patentes de Estados Unidos números 5.500.362 y 5.821.337; Hellstrom y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, 83:7059-7063; Hellstrom y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1985, 82:1499-1502; y Bruggemann y col., *J. Exp. Med.*, 1987, 166:1351-1361. Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y linfocitos citotóxicos naturales (NK). Como alternativa, o adicionalmente, La actividad de ADCC de la molécula de interés puede determinarse *in vivo*, usando un modelo animal, tal como el desvelado en Clynes y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:652-656.

Los ensayos de unión a C1q también se pueden llevar a cabo para confirmar que el anticuerpo no puede unirse a C1q y, por lo tanto, carece de actividad de CDC. Los ejemplos de ensayos de unión a C1q incluyen los descritos en los documentos WO 2006/029879 y WO 2005/100402.

Los ensayos de activación del complemento incluyen los descritos, por ejemplo, en Gazzano-Santoro y col., *J. Immunol. Methods*, 1996, 202:163-171; Cragg y col., *Blood*, 2003, 101:1045-1052; y Cragg y Glennie, *Blood*, 2004, 103:2738-2743.

La unión de FcRn y el aclaramiento *in vivo* (determinación de la semivida) también se pueden medir, por ejemplo, utilizando los procedimientos descritos en Petkova y col., *Intl. Immunol.*, 2006, 18:1759-1769.

## 8. Preparación de Anticuerpos

### 8.1. Preparación de antígeno

El antígeno CD74 que se utilizará para la producción de anticuerpos puede ser CD74 intacto o un fragmento de CD74. Otras formas de CD74 útiles para generar anticuerpos resultarán evidentes para los expertos en la materia.

### 8.2. Anticuerpos monoclonales

Se pueden obtener anticuerpos monoclonales, por ejemplo, utilizando el procedimiento de hibridoma descrito por primera vez por Kohler y col., *Nature*, 1975, 256: 495-497, y / o por procedimientos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 4.816.567). También se pueden obtener anticuerpos monoclonales, por ejemplo, utilizando bibliotecas basadas en fagos o en levaduras. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n.º 8.258.082 y 8.691.730.

En el procedimiento del hibridoma, un ratón u otro animal huésped apropiado se inmuniza para provocar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente a la proteína utilizada para la inmunización. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Los linfocitos se fusionan con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma. Véase Goding J.W., *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* 3ª ed. (1986) Academic Press, San Diego, CA.

Las células de hibridoma se siembran y crecen en un medio de cultivo adecuado que contiene una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células de mieloma parentales no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma precursoras carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforibosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas normalmente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), que son sustancias que evitan el crecimiento de células deficientes de HGPRT.

Las células de mieloma útiles son aquellas que se fusionan de manera eficaz, soportan la producción estable de alto nivel de anticuerpos por las células productoras de anticuerpos seleccionadas y son condiciones de medios sensibles, tal como la presencia o ausencia de medio HAT. Entre estas, las líneas de células de mieloma preferentes son las líneas de mieloma murino, tales como aquellas procedentes de tumores de ratón MOP-21 y MPC-11 disponibles en Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA) y células SP-2 o X63-Ag8-653 (disponibles en la Colección Americana de Cultivos Tipo, Rockville, MD). Se han descrito también las líneas de células de mieloma humano y heteromioma de ratón-humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. Véase, por ejemplo, Kozbor, *J. Immunol.*, 1984, 133:3001.

Después de la identificación de las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y / o actividad biológica deseadas, los clones pueden subclonarse por procedimientos de dilución límite y cultivarse por procedimientos convencionales. Véase Goding, *citado anteriormente*. Los medios de cultivo adecuados para este fin

incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI-1640. Además, las células de hibridoma pueden cultivarse *in vivo* como tumores de líquido ascítico en un animal.

5 El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales se puede aislar y secuenciar fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas que pueden unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales). Por lo tanto, las células de hibridoma pueden servir como una fuente útil de ADN que codifica anticuerpos con las propiedades deseadas. Una vez aislado, el ADN puede introducirse en vectores de expresión, que luego se transfectan en células huésped, tales como bacterias (por ejemplo, *E. coli*), levadura (por ejemplo, *Saccharomyces* o *Pichia* sp.), células COS, células de ovario de hámster chino (CHO) o células de mieloma que de otra manera no producen anticuerpo, para producir los anticuerpos monoclonales.

### 8.3. Anticuerpos humanizados

15 Los anticuerpos humanizados pueden generarse reemplazando la mayoría, o todas, las porciones estructurales de un anticuerpo monoclonal con secuencias de anticuerpos humanos correspondientes. En consecuencia, se genera una molécula híbrida en la que solo la variable específica de antígeno, o CDR, está compuesta por una secuencia no humana. Los procedimientos para obtener anticuerpos humanizados incluyen los descritos en, por ejemplo, Winter y Milstein, *Nature*, 1991, 349:293-299; Rader y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:8910-8915; Steinberger y col., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:36073-36078; Queen y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, 86:10029-10033; y las patentes de Estados Unidos números 5.585.089, 5.693.761, 5.693.762 y 6.180.370.

### 8.4. Anticuerpos humanos

25 Los anticuerpos humanos pueden generarse mediante varias técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo usando animales transgénicos (por ejemplo, ratones humanizados). Véase, por ejemplo, Jakobovits y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:2551; Jakobovits y col., *Nature*, 1993, 362:255-258; Bruggermann y col., *Year in Immuno.*, 1993,7:33; y las patentes de Estados Unidos n.º 5.591.669, 5.589.369 y 5.545.807. Los anticuerpos humanos también pueden derivarse de bibliotecas de presentación de fagos (véase, por ejemplo, Hoogenboom y col., *J. Mol. Biol.*, 1991, 227:381-388; Marks y col., *J. Mol. Biol.*, 1991, 222:581-597; y las patentes de Estados Unidos números 5.565.332, y 5.573.905). Los anticuerpos humanos también pueden ser generados por células B activadas *in vitro* (véase, por ejemplo, patente de Estados Unidos. N.º 5.567.610 y 5.229.275). Los anticuerpos humanos también pueden derivarse de bibliotecas basadas en levaduras (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 8.691.730).

## 9. Los vectores, células huésped y procedimientos recombinantes

La invención también proporciona ácidos nucleicos aislados que codifican anticuerpos anti-CD74, vectores y células huésped que comprenden los ácidos nucleicos, y técnicas recombinantes para la producción de los anticuerpos.

40 Para la producción recombinante del anticuerpo, el ácido nucleico que lo codifica puede aislarse e insertarse en un vector replicable para una clonación adicional (es decir, amplificación del ADN) o expresión. En algunos aspectos, el ácido nucleico puede producirse mediante recombinación homóloga, por ejemplo, tal como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.204.244.

45 Se conocen muchos vectores diferentes en la técnica. Los componentes del vector generalmente incluyen, aunque no de forma limitativa, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción, por ejemplo, tal como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.534.615.

50 A continuación se proporcionan ejemplos ilustrativos de células huésped adecuadas. Estas células huésped no están destinadas a ser limitantes.

55 Las células huésped adecuadas incluyen cualquier célula procariota (por ejemplo, bacteriana), eucariota inferior (por ejemplo, levadura) o eucariota superior (por ejemplo, mamíferos). Procariotas adecuados incluyen eubacterias, tales como organismos Gram negativos o Gram positivos, por ejemplo, Enterobacteriaceae, tal como *Escherichia* (*E. coli*), *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* (*S. typhimurium*), *Serratia* (*S. marcescans*), *Shigella*, *Bacilos* (*B. subtilis* y *B. licheniformis*), *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*), y *Streptomyces*. Un huésped de clonación de *E. coli* útil es *E. coli* 294, aunque otras cepas como *E. coli* B, *E. coli* X1776 y *E. coli* W3110 son adecuadas.

60 Además de procariotas, los microbios eucariotas tales como hongos filamentosos o levaduras también son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos anti-CD74. *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de panadero común, es un microorganismo huésped eucariota inferior usado habitualmente. Sin embargo, una serie de otros géneros, especies y cepas disponibles y útiles, tales como *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* (*K. lactis*, *K. fragilis*, *K. bulgaricus*, *K. wick-eramii*, *K. waltii*, *K. drosophilorum*, *K. thermotolerans* y *K. marxianus*), *Yarrowia*, *Pichia pastoris*, *Candida* (*C. albicans*), *Trichoderma reesia*, *Neurospora*

*crassa*, *Schwanniomyces* (*S. occidentalis*), y hongos filamentosos, tales como, por ejemplo *Penicillium*, *Tolypocladium* y *Aspergillus* (*A. nidulans* y *A. niger*).

5 Las células huésped de mamíferos útiles incluyen células COS-7, células HEK293; células de riñón de cría de hámster (BHK); ovario de hámster chino (CHO); células de sertoli de ratón; células renales de mono verde africano (VERO-76), y similares.

10 Las células huésped usadas para producir el anticuerpo anti-CD74 de esta invención pueden cultivarse en diversos medios. Medios disponibles comercialmente, tales como, por ejemplo, medio F10 de Ham, medio mínimo esencial (MEM), RPMI-1640 y medio Eagle modificado de Dulbecco ((DMEM), son adecuados para cultivar las células huésped. Además, cualquiera de los medios descritos en Ham y col., *Meth. Enz.*, 1979, 58:44; Barnes y col., *Anal. Biochem.*, 1980, 102:255; y las Patentes de Estados Unidos N° 4.767.704, 4.657.866, 4.927.762, 4.560.655 y 5.122.469, o los documentos WO 90/03430 y WO 87/00195.

15 Cualquiera de estos medios puede complementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (tales como insulina, transferrina o factor de crecimiento epidérmico), sales (tal como cloruro de sodio, calcio, magnesio y fosfato), tampones (tal como HEPES), nucleótidos (tales como adenosina y timidina), antibióticos, oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos habitualmente presentes a concentraciones finales en el intervalo micromolar) y glucosa o una fuente de energía equivalente. También se pueden incluir cualesquiera otros  
20 suplementos necesarios a concentraciones adecuadas que conocerán los expertos en la materia.

Las condiciones de cultivo, tales como la temperatura, pH y similares, son las utilizadas previamente con la célula hospedadora seleccionada para la expresión, y serán evidentes para el experto en la materia.

25 Cuando se usan técnicas recombinantes, el anticuerpo se puede producir intracelularmente, en el espacio periplásmico, o directamente secretada en el medio. Si el anticuerpo se produce intracelularmente, como primera etapa, los restos de partículas, ya sean células hospedadoras o fragmentos lisados, se retiran, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Por ejemplo, Carter y col., (*Bio/Technology*, 1992, 10: 163-167) describe un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan en el espacio periplásmico de *E. coli*. Brevemente, la pasta  
30 celular se descongela en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) durante aproximadamente 30 minutos. Los restos celulares se pueden eliminar por centrifugación.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se produce en un sistema libre de células. En algunos aspectos, el sistema libre de células es un sistema de transcripción y traducción in vitro como se describe en Yin y col., *mAb*, 2012, 4:217-225. En algunos aspectos, el sistema sin células utiliza un extracto sin células de una célula eucariota o de una célula procarionta. En algunos aspectos, la célula procarionta es *E. coli*. La expresión libre de células del anticuerpo puede ser útil, por ejemplo, cuando el anticuerpo se acumula en una célula como un agregado insoluble, o donde los rendimientos de la expresión periplásmica son bajos.

40 Cuando el anticuerpo se secreta en el medio, los sobrenadantes de tales sistemas de expresión generalmente se concentran primero usando un filtro de concentración de proteínas disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon® o Millipore® Pellicon®. Se puede incluir un inhibidor de la proteasa como PMSF en cualquiera de las etapas anteriores para inhibir la proteólisis y se pueden incluir antibióticos para prevenir el crecimiento de contaminantes adventicios.

45 La composición de anticuerpo preparada a partir de las células puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad una técnica de purificación particularmente útil. La idoneidad de la proteína A como ligando de afinidad depende de la especie e isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que esté presente en el anticuerpo. La proteína A puede usarse para purificar anticuerpos basados en cadenas pesadas humanas  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  o  $\gamma 4$  (Lindmark y col., *J. Immunol. Meth.*, 1983, 62:1-13). Se recomienda la Proteína G para todos los isotipos de ratón y para la  $\gamma 3$  humana (Guss y col., *EMBO J.*, 1986, 5:1567-1575).

55 La matriz a la que se une el ligando de afinidad es con frecuencia agarosa, pero otras matrices están disponibles. Las matrices mecánicamente estables, tal como el vidrio de poro controlado o poli(estirendivinil)benceno, permiten caudales más rápidos y tiempos de procesamiento más cortos que los que se pueden lograr con la agarosa. Cuando el anticuerpo comprende un dominio C<sub>H3</sub>, La resina BakerBond ABX® es útil para la purificación.

60 Otras técnicas para la purificación de proteínas, tal como el fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación en etanol, HPLC en fase inversa, cromatografía en sílice, cromatografía sobre heparina Sepharose®, cromatografía de exclusión, SDS-PAGE y precipitación con sulfato de amonio también están disponibles, y un experto en la técnica puede aplicarlas.

65 Después de cualquier etapa o etapas de purificación preliminares, la mezcla que comprende el anticuerpo de interés y los contaminantes puede someterse a cromatografía de interacción hidrófoba a pH bajo usando un tampón de elución a un pH entre aproximadamente 2,5-4,5, generalmente realizado a bajas concentraciones de sal (por

ejemplo, de aproximadamente 0-0,25 M de sal).

#### 10. Composiciones farmacéuticas y procedimientos de administración

5 Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden formularse en composiciones farmacéuticas usando procedimientos disponibles en la técnica y los desvelados en el presente documento. Cualquiera de los anticuerpos proporcionados en el presente documento puede proporcionarse en la composición farmacéutica apropiada y administrarse por una vía de administración adecuada.

10 Los procedimientos proporcionados en el presente documento abarcan la administración de composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un anticuerpo proporcionado en el presente documento y uno o más vehículos compatibles y farmacéuticamente aceptables. En este contexto, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que se ha aprobado por parte de un organismo de control del gobierno federal o estatal, o que está listada en la Farmacopea de Estados Unidos o en otra farmacopea reconocida de forma general para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos. El término "vehículo" incluye un diluyente, adyuvante (por ejemplo, adyuvante de Freund (completo e incompleto)), excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos aquellos de origen en el petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. El agua puede usarse como vehículo cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Se pueden emplear también soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en Martin, E.W., *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

25 En la práctica clínica, las composiciones farmacéuticas o anticuerpos proporcionados en este documento pueden administrarse por cualquier ruta conocida en la técnica. En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica o anticuerpo proporcionado en el presente documento se administra por vía parenteral.

30 Las composiciones para administración parenteral pueden ser emulsiones o soluciones estériles. Las composiciones parenterales pueden incluir, por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales y ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo, oleato de etilo). Estas composiciones también pueden contener agentes humectantes, isotonzantes, emulsionantes, dispersantes y estabilizantes. La esterilización puede llevarse a cabo de varias maneras, por ejemplo usando un filtro bacteriológico, por radiación o por calentamiento. Las composiciones parenterales también se pueden preparar en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en el momento del uso en agua estéril o cualquier otro medio estéril inyectable.

35 En determinadas realizaciones, una composición proporcionada en el presente documento es una composición farmacéutica o una forma de dosificación unitaria única. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación unitarias proporcionadas en el presente documento comprenden una cantidad profiláctica o terapéuticamente efectiva de uno o más anticuerpos profilácticos o terapéuticos.

40 Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación típicas comprenden uno o más excipientes. Los excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica de la farmacia, y los ejemplos no limitantes de excipientes adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Si un excipiente particular es adecuado para su incorporación en una composición farmacéutica o forma de dosificación depende de varios factores bien conocidos en la técnica que incluyen, aunque no de forma limitativa, la forma en que se administrará la forma de dosificación a un sujeto y el anticuerpo específico en la forma de dosificación. La composición o forma de dosificación unitaria individual, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes del pH.

50 Las composiciones sin lactosa proporcionadas en el presente documento pueden comprender excipientes que son bien conocidos en la técnica y están enumerados, por ejemplo, en la Farmacopea de Estados Unidos (USP) SP (XXI) / NF (XVI). En general, las composiciones sin lactosa comprenden un principio activo, un aglutinante / carga y un lubricante en cantidades farmacéuticamente compatibles y farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de formas de dosificación sin lactosa comprenden un ingrediente activo, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado y estearato de magnesio.

60 En el presente documento también se incluyen composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden un anticuerpo, ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos anticuerpos.

65 Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación proporcionadas en el presente documento pueden prepararse usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o baja humectación. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación que comprenden lactosa y al menos un ingrediente activo que comprende una amina primaria o secundaria pueden ser anhidras si se espera un contacto sustancial con vapor y/o humedad durante la fabricación, envasado y/o almacenamiento.

Una composición farmacéutica anhidra se debe preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. En consecuencia, las composiciones anhidras se pueden envasar usando materiales que se sabe que previenen la exposición al agua de manera que se pueden incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitaria (por ejemplo, viales), envases de blíster y paquetes de tiras.

Además se proporcionan composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más excipientes que reducen la velocidad por la cual un anticuerpo se descompondrá. Dichos anticuerpos, a los que se hace referencia en el presente documento como "estabilizantes", incluyen, aunque no de forma limitativa, antioxidantes tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones de sal.

### 10.1. Formas de dosificación parenteral

En determinadas realizaciones, se proporcionan formas de dosificación parenteral. Las formas de dosificación parenteral pueden administrarse a los sujetos por diversas vías, incluyendo, aunque no de forma limitativa, subcutánea, intravenosa (incluida la inyección en bolo), intramuscular, e intraarterial. Debido a que su administración normalmente evita las defensas naturales de los pacientes contra los contaminantes, las formas de dosificación parenteral son, normalmente, estériles o pueden esterilizarse antes de la administración a un sujeto. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, aunque no de forma limitativa, soluciones listas para inyección, productos secos listos para disolverse o suspenderse en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección, suspensiones listas para inyección, y emulsiones.

Los vehículos adecuados que se pueden usar para proporcionar formas de dosificación parenterales de la invención son muy conocidas por los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación: Agua para inyección USP; vehículos acuosos, tales como, aunque no de forma limitativa, inyección de cloruro sódico, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio e inyección de Ringer lactato; vehículos miscibles con agua, tales como, aunque no de forma limitativa, alcohol etílico, polietilenglicol, y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, aunque no de forma limitativa, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

Los excipientes que aumentan la solubilidad de uno o más de los anticuerpos descritos en el presente documento también se pueden incorporar en las formas de dosificación parenteral.

### 10.2. Formas de dosificación y dosis unitarias

En terapéutica humana, el médico determinará la posología que considere más adecuada según un tratamiento preventivo o curativo y según la edad, el peso, la etapa de la infección y otros factores específicos del sujeto a tratar.

La cantidad de anticuerpo o composición que será efectiva en la prevención o el tratamiento de un trastorno o uno o más síntomas del mismo variará con la naturaleza y la gravedad de la enfermedad o afección, y la ruta por la cual se administra el anticuerpo. La frecuencia y la dosis también variarán según los factores específicos de cada sujeto dependiendo de la terapia específica (por ejemplo, agentes terapéuticos o profilácticos) administrados, la gravedad del trastorno, la enfermedad o afección, la vía de administración, así como la edad, el peso corporal, la respuesta y el historial médico anterior del sujeto. Las dosis eficaces se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de ensayo de modelos *in vitro* o animales.

En determinadas realizaciones, las dosis a modo de ejemplo de una composición incluyen cantidades de miligramos o microgramos del anticuerpo por kilogramo de sujeto o peso de muestra (por ejemplo, aproximadamente 10 microgramos por kilogramo a aproximadamente 50 miligramos por kilogramo, de aproximadamente 100 microgramos por kilogramo a aproximadamente 25 miligramos por kilogramo, o de aproximadamente 100 microgramos por kilogramo a aproximadamente 10 miligramos por kilogramo). En determinada realización, la dosis del anticuerpo proporcionado en el presente documento, en función del peso del anticuerpo, administrado para prevenir, tratar, manejar o mejorar un trastorno, o uno o más síntomas del mismo en un sujeto es 0,1 mg / kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg / kg, o 15 mg / kg o más del peso corporal de un sujeto. En otra realización, la dosificación de la composición o una composición proporcionada en el presente documento administrada para prevenir, tratar, manejar o mejorar un trastorno, o uno o más síntomas del mismo en un sujeto es de 0,1 mg a 200 mg, 0,1 mg a 100 mg, 0,1 mg a 50 mg, 0,1 mg a 25 mg, 0,1 mg a 20 mg, 0,1 mg a 15 mg, 0,1 mg a 10 mg, 0,1 mg a 7.5 mg, 0,1 mg a 5 mg, 0,1 a 2,5 mg, 0,25 mg a 20 mg, 0,25 a 15 mg, 0,25 a 12 mg, 0,25 a 10 mg, 0,25 mg a 7.5 mg, 0,25 mg a 5 mg, 0,25 mg a 2,5 mg, 0,5 mg a 20 mg, 0,5 a 15 mg, 0,5 a 12 mg, 0,5 a 10 mg, 0,5 mg a 7.5 mg, 0,5 mg a 5 mg, 0,5 mg a 2,5 mg, 1 mg a 20 mg, 1 mg a 15 mg, 1 mg a 12 mg, 1 mg a 10 mg, 1 mg a 7,5 mg, 1 mg a 5 mg, o 1 mg a 2,5 mg.

La dosis puede administrarse de acuerdo con un programa adecuado, por ejemplo, una vez, dos veces, tres veces o por veces a la semana. Puede ser necesario usar dosis del anticuerpo fuera de los rangos descritos aquí en algunos casos, como será evidente para los expertos en la técnica. Asimismo, se observa que el médico o el médico tratante

sabrán cómo y cuándo interrumpir, ajustar o finalizar la terapia junto con la respuesta del sujeto.

Pueden aplicarse diferentes cantidades terapéuticamente efectivas para diferentes enfermedades y afecciones, como sabrán fácilmente los expertos en la materia. De manera similar, las cantidades suficientes para prevenir, control, tratar o mejorar tales trastornos, pero insuficientes para causar, o suficientes para reducir, Los efectos adversos asociados a los anticuerpos proporcionados en el presente documento también están abarcados por las cantidades de dosificación descritas en el presente y los programas de frecuencia de dosis. Adicionalmente, cuando a un sujeto se le administran múltiples dosis de una composición proporcionada en el presente documento, no todas las dosis deben ser iguales. Por ejemplo, la dosis administrada al sujeto puede aumentarse para mejorar el efecto profiláctico o terapéutico de la composición o puede disminuirse para reducir uno o más efectos secundarios que experimenta un sujeto en particular.

En determinadas realizaciones, el tratamiento o la prevención pueden iniciarse con una o más dosis de carga de un anticuerpo o composición proporcionada en este documento seguido de una o más dosis de mantenimiento.

En determinadas realizaciones, una dosis de un anticuerpo o composición proporcionada en este documento puede administrarse para lograr una concentración en estado estacionario del anticuerpo en sangre o suero del sujeto. La concentración en estado estacionario puede determinarse mediante la medición de acuerdo con las técnicas disponibles para los expertos o puede basarse en las características físicas del sujeto, como la altura, el peso y la edad.

En determinadas realizaciones, la administración de la misma composición se puede repetir y las administraciones pueden separarse al menos 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 10 días, 15 días, 30 días, 45 días, 2 meses, 75 días, 3 meses o 6 meses. En otras realizaciones, la administración del mismo agente profiláctico o terapéutico puede repetirse y la administración puede separarse al menos 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 10 días, 15 días, 30 días, 45 días, 2 meses, 75 días, 3 meses o 6 meses.

### 11. Aplicaciones terapéuticas

En aplicaciones terapéuticas, los anticuerpos de la invención. se administran a un mamífero, generalmente un ser humano, en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable tal como las conocidas en la técnica y las tratadas anteriormente. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención pueden administrarse a un humano por vía intravenosa como un bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo, por vías intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial, intratecal o intratumoral. Los anticuerpos también se administran adecuadamente por las vías peritumoral, intralesional o perilesional, para ejercer efectos terapéuticos tanto locales como sistémicos. La ruta intraperitoneal puede ser particularmente útil, por ejemplo, en el tratamiento de tumores de ovario.

Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden ser útiles para el tratamiento de cualquier enfermedad o afección que implique una regulación positiva de CD74. Se ha observado una regulación por aumento de la expresión de CD74 en cánceres y enfermedades autoinmunes (Borghese y col., *Exp. Op. Ther. Targets*, 2011,15:237-251), así como en infección (Hofman y col., *Modern Pathology*, 2007, 20: 974-989) y afecciones inflamatorias (Vera y col., *Exp. Biol. & Med.*, 2008, 233:620-626). Se sabe que CD74 se expresa a niveles moderados a altos en el mieloma múltiple. Burton y col., *Clin. Cancer Res.*, 2004, 10:6606-6611. También se sabe que la expresión de CD74 es un factor clave asociado a la progresión del cáncer de páncreas. Zhang y col., *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.*, 2014, 13:81-86.

### 12. Aplicaciones de diagnóstico

En algunas realizaciones, los anticuerpos proporcionados en el presente documento se usan en aplicaciones de diagnóstico. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD74 puede ser útil en ensayos para la proteína CD74. En algunos aspectos, el anticuerpo puede usarse para detectar la expresión de CD74 en diversas células y tejidos. Estos ensayos pueden ser útiles, por ejemplo, par diagnosticar cáncer, infección y enfermedad autoinmunitaria.

En algunas aplicaciones de diagnóstico, el anticuerpo puede marcarse con un resto detectable. Los restos detectables adecuados incluyen, pero no se limitan a los mismos, radioisótopos, marcadores fluorescentes y etiquetas de sustrato enzimático. En otra realización de la invención, el anticuerpo anti-CD74 no necesita marcarse, y su presencia puede detectarse usando un anticuerpo marcado que se une específicamente al anticuerpo anti-CD74.

### 13. Reactivos de purificación de afinidad

Los anticuerpos de la invención pueden usarse como agentes de purificación por afinidad. En este proceso, los anticuerpos pueden inmovilizarse en una fase sólida como una resina o papel de filtro, usando procedimientos bien conocidos en la técnica. El anticuerpo inmovilizado se pone en contacto con una muestra que contiene la proteína CD74 (o fragmento de la misma) para purificar, y luego el soporte se lava con un disolvente adecuado que eliminará

sustancialmente todo el material de la muestra, excepto la proteína CD74, que está unida al anticuerpo inmovilizado. Por último, el soporte se lava con otro disolvente adecuado, tal como tampón de glicina, pH 5,0, se liberará la proteína CD74 del anticuerpo.

## 5 14. Kits

En algunas realizaciones, se puede proporcionar un anticuerpo de la presente invención en un kit, es decir, una combinación empaquetada de reactivos en cantidades predeterminadas con instrucciones para realizar un procedimiento. En algunas realizaciones, el procedimiento es un ensayo de diagnóstico. En otras realizaciones, el procedimiento es un procedimiento terapéutico.

### Ejemplos

#### 15 Ejemplo 1: Generación y detección selectiva primaria de anticuerpos anti-CD74

Las bibliotecas de anticuerpos Fab o scFv se construyeron usando un protocolo de PCR de extensión de solapamiento estándar con cebadores mutagénicos dirigidos a las CDR. Véase Heckman y Pease, Nat. Protoc., 2007, 2:924-932. Las selecciones para nuevos anticuerpos se realizaron utilizando protocolos estándar de visualización de ribosomas. Véase Dreier y Pluckthun, Methods Mol. Biol., 2011, Clifton, NJ, 687:283-306. Específicamente, los formatos de selección basados en scFv o Fab se realizaron de acuerdo con los protocolos publicados. Véase Hanes y Pluckthun, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1997, 94:4937-4942 y Stafford y col., Protein Eng. Des. Sel. PEDS, 2014, 27:97-109. Después de múltiples rondas de selección, el ADN de la salida de RT-PCR se clonó en un vector optimizado para la expresión libre de células utilizando técnicas estándar de biología molecular. Véase Yin y col., mAb, 2012, 4:217-225.

25 Las bibliotecas de variantes de anticuerpos aisladas por las selecciones se transformaron en *E. coli* y se cultivaron en placas de agar con antibiótico (kanamicina). Se recogieron colonias individuales y se cultivaron en caldo líquido (TB + kanamicina). Los cultivos nocturnos se usaron para preparar reservas de glicerol y para la amplificación de círculo rodante (RCA) para amplificar el ADN que codifica la variante de interés. Las variantes se expresaron después en una reacción de síntesis de proteína libre de células como se describe en Zawada y col., (Biotechnol. Bioeng., 2011, 108:1570-1578) con las modificaciones que se describen a continuación.

35 Los extractos sin células se trataron con yodoacetamida 50  $\mu$ M durante 30 minutos a temperatura ambiente (RT; 20 °C) y se añaden a una premezcla que contiene todos los demás componentes, excepto la plantilla de ADN de la variante de interés. Se iniciaron reacciones libres de células, a un volumen final de 60  $\mu$ l mediante la adición de una plantilla de ADN variante amplificada al 10 % (v/v) y se incubaron a 30 °C durante 12 h en un agitador a 650 rpm en placas de 96 pocillos. Se sintetizó un total de 88 variantes (y 12 pocillos de control, incluidos los controles en placa y añadidos externamente) en cada placa, y se seleccionaron aproximadamente 12-14 placas para cada campaña de selección. La reacción se incubó adicionalmente a 4 °C durante 6 horas. La concentración final en la reacción de síntesis de proteínas fue 40% de extracto celular que fue diseñado para expresar también el enlace disulfuro isomerasa (DsbC), glutatión disulfuro 2 mM (GSSG), glutamato de magnesio 8 mM, glutamato de amonio 10 mM, glutamato de potasio 130 mM, piruvato sódico 35 mM, AMP 1,2 mM, 0,86 mM de cada GMP, UMP y CMP, aminoácidos 2 mM (excepto 1 mM para tirosina y fenilalanina), oxalato de sodio 4 mM, putrescina 1 mM, espermidina 1,5 mM, fosfato potásico 15 mM, RNAP T7 100 nM, Después de la síntesis, cada reacción se diluyó 1:50 en PBST (PBS a pH 7,4 con Tween-20 + 0,2 % de BSA).

50 Las variantes se analizaron usando un ensayo basado en ELISA, utilizando placas de 384 pocillos preparadas por prerrevestimiento con 2  $\mu$ g / ml de antígeno hu-CD74 (catálogo R&D SYSTEMS # 3590-CD-050; n.º de registro de GenBank NP\_004346; GI No. GI: 10835071) diluido en tampón de bicarbonato de sodio y luego bloqueado con BSA. Se programaron sistemas automatizados de manejo de líquidos de alto rendimiento (estaciones de trabajo Biomek FX®) para llevar a cabo los pasos de ELISA, en concreto, adición de 30  $\mu$ l de reacciones libres de células diluidas a las placas de ensayo, lavado de placas, adición de anticuerpo secundario (Fc anti-humano, conjugado a HRP), adición de sustrato de detección (SuperSignal®, Thermo-Fisher / Pierce) y lectura de señales de placa en un lector de placas SeptraMax® M5 (Molecular Devices). Las señales obtenidas para todas las variantes se graficaron, y los principales éxitos se seleccionaron en función de la señal: relación de ruido, o por intensidad de señal sin procesar, dependiendo de la intensidad de la señal de fondo. Las células que contenían aproximadamente 300-400 de los mejores éxitos se seleccionaron de las reservas de glicerol, y las secuencias de los scFv en las células se determinaron usando secuenciación RCA. Las secuencias se analizaron para seleccionar variantes con CDR únicas y mutaciones mínimas en las regiones marco. Las secuencias seleccionadas fueron luego sometidas a un cribado secundario, tal como se describe en el Ejemplo 2.

#### 60 Ejemplo 2: Producción y purificación de variantes de anticuerpos seleccionados

65 Las células que contenían los 88 mejores resultados del cribado primario se aislaron de las reservas de glicerol y se cultivaron durante la noche en caldo líquido (TB + kanamicina), en placas de 96 pocillos. El ADN plasmídico se aisló de los cultivos nocturnos con un kit de preparación de plásmido QiaPrep 96 Turbo® (Qiagen) de acuerdo con las



instrucciones del fabricante. Se prepararon reacciones libres de células para expresar las variantes como se ha descrito anteriormente, excepto que se añadió plantilla de ADN plasmídico a una concentración final de 7,5 µg / ml de cadena pesada etiquetada con His 6x y 2,5 µg / ml de molde de ADN de cadena ligera. Los controles también se expresaron en la misma placa. Después de la incubación durante la noche (30 °C, 12 horas, seguido de 6 horas a 40 °C), la mezcla se centrifugó a 5000x g, 4 °C durante 10 minutos. Los protocolos de purificación IMAC se emplearon para capturar variantes de anticuerpos del sobrenadante libre de células usando un procedimiento de purificación por lotes de alto rendimiento semiautomático. Cada mililitro de sobrenadante clarificado se mezcló en una placa de pocillos profundo de 96 pocillos con 50 µl de resina IMAC (Ni Sepharose® High Performance, GE Healthcare) previamente equilibrado en tampón de unión IMAC (Tris 50 mM pH 8.0, NaCl 300 mM, imidazol 10 mM) pipeteando hacia arriba y hacia abajo durante 15 minutos a baja velocidad de mezcla. La suspensión de resina se transfirió luego a una placa de filtro, y se lavó dos veces con tampón de unión IMAC, y finalmente se eluyeron las variantes de anticuerpo etiquetadas con His usando 200 µl de tampón de elución IMAC (Tris 50 mM pH 8,0, NaCl 300 mM, imidazol 500 mM). Las variantes purificadas se intercambiaron con tampón en PBS usando una placa ZEBRA de 96 pocillos (MWCO de 7 kD, Thermo-Fisher). Debido a que el marcador de His es C-terminal, este procedimiento permite el aislamiento de proteínas de longitud completa. Para cuantificar las variantes después de la purificación, las muestras purificadas se analizaron usando un ensayo HT Protein Express® en un LabChip GXII® (Perkin Elmer). Las muestras se prepararon para el análisis de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante, y las concentraciones de proteínas se calcularon en comparación con una curva estándar de trastuzumab (1000-10 µg / ml) en las mismas condiciones.

### Ejemplo 3: Análisis de velocidades de disociación de variantes de anticuerpos seleccionados

Todas las variantes que se produjeron como se describe en el Ejemplo 2, y que tenían concentraciones de proteínas medibles, se sometieron a una clasificación de la velocidad de disociación utilizando un instrumento Biacore® T200. El anticuerpo Fc antihumano (GE Healthcare) se acopló directamente a un chip CM5 usando acoplamiento de amina. Las variantes de anticuerpos se capturaron en la superficie de Fc antihumana, y la tasa de desviación se midió haciendo fluir 50 nM de antígeno huCD74 sobre los anticuerpos.

### Ejemplo 4: Análisis cinético de variantes de anticuerpos seleccionados

Las mediciones de afinidad ( $K_D$ ) se obtuvieron utilizando el instrumento Biacore® T200, para variantes con velocidades "lentas" y buenas propiedades de destrucción celular (como se describe en el Ejemplo 5).

La IgG anti-Fc humana (kit de captura de anticuerpos humanos, GE Life Sciences) se inmovilizó en un chip CM5 (GE Life Sciences) usando química de acoplamiento de amina (kit de acoplamiento de amina, GE Life Sciences). Las etapas de inmovilización se llevaron a cabo a una velocidad de flujo de 25 µl / min en 1X tampón HBS-EP + (GE Life Sciences; 10x reserva diluida antes de su uso). Las superficies del sensor se activaron durante 7 minutos con una mezcla de NHS (0,05 M) y EDC (0,2 M). La IgG anti-Fc humana se inyectó sobre las 4 células de flujo a una concentración de 25 µg / ml en acetato de sodio 10 mM, pH 5,0, durante 7 min. Se inyectó etanolamina (1 M, pH 8,5) durante 7 minutos para bloquear cualquier grupo activado restante. Se inmovilizó un promedio de 12.500 unidades de respuesta (RU) de anticuerpo de captura en cada celda de flujo.

Los experimentos de unión cinética se realizaron a 25 °C usando 1X tampón HBS-EP +. Los datos cinéticos se recolectaron inyectando anticuerpos de prueba y control a concentraciones de 10, 5 y 2,5 µg / ml durante 12 s a una velocidad de flujo de 10 µl / min en las células de flujo 2, 3 y 4 respectivamente, seguido de un lavado de tampón durante 30 s al mismo caudal. La caracterización cinética de las muestras de anticuerpos se realizó con 8 concentraciones de una serie de dilución 1: 2 del antígeno rhCD74 (R&D Systems) y 2 inyecciones de antígeno 0 nM (solo tampón). Después de capturar el ligando (anticuerpo) en la superficie de Fc antihumano, el analito (antígeno) se unió a 50, 25, 12,5, 6,3, 3,1, 1,6, 0,8, 0,4 y 0 nM durante 180 segundos, seguido de una segunda fase de disociación de 900 segundos a una velocidad de flujo de 50 µl / min. Entre cada captura de ligando y ciclo de unión de analito, la regeneración se llevó a cabo utilizando 2 inyecciones de  $MgCl_2$  3 M durante 30 segundos a 30 µl / min, seguido de una etapa de lavado de tampón de 30 segundos.

Los datos se ajustaron con el software de evaluación Biacore T200, utilizando un modelo de unión Langmuir 1: 1. La  $K_D$  (afinidad, nM) se determinó como una relación de las constantes de velocidad cinética calculadas a partir de los ajustes de las fases de asociación y disociación.

### Ejemplo 5: Actividad secundaria de eliminación de células ADC

La capacidad de internalización de anticuerpos seleccionados se evaluó mediante un ensayo secundario de destrucción de células conjugadas de anticuerpo-fármaco (ADC) en células SU-DHL-6 CD74 positivas. Las células SU-DHL-6 se obtuvieron de ATCC (CRL-2959) y se mantuvieron en medio RPMI, rico en glucosa (Cellgro®, Mediatech, Manassas, VA) suplementado con 20 % de suero bovino fetal inactivado por calor (HyClone™; Thermo Scientific, Waltham, MA), GlutaMAX™ 2 mM (Invitrogen, Carlsbad, CA) y 1X penicilina / estreptomina (Cellgro®, Mediatech, Manassas, VA). Las células fueron recolectadas y contadas por los analizadores de viabilidad celular Vi-CELL™ (Beckman Coulter, Brea, CA). Se sembraron un total de  $2 \times 10^4$  células en un volumen de 40 µl en cada

pocillo de una placa de poliestireno blanca de fondo plano de media área de 96 pocillos. Los anticuerpos se formularon a una concentración inicial 4X en el medio de cultivo celular y se filtraron a través de placas de filtro MultiScreen® HTS de 96 pocillos (Millipore; Billerica, MA). luego se añadieron 20 µl de anticuepro diluido en serie (dilución en serie a 1:3 comenzando con 200 nM) a pocillos de tratamiento y después 20 µl anti-hFc-MMAF (MORADEC) se añadieron a cada pocillo a una concentración final fija de 5 µg / ml. Las placas de ensayo se cultivaron a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> durante 72 horas antes del ensayo de viabilidad celular. Para la medición de la viabilidad celular, se añadieron 80 µl de reactivo CellTiter-Glo® (Promega, Madison, WI) a cada pocillo, y las placas se procesaron según las instrucciones del producto. La luminiscencia relativa se midió en un lector de placas EnVision® (Perkin Elmer, Waltham, MA). Las lecturas relativas de luminiscencia se convirtieron en porcentaje de viabilidad utilizando células no tratadas como controles. Los datos se ajustaron con análisis de regresión no lineal, usando log (inhibidor) vs. pendiente variable de respuesta, ecuación de ajuste de cuatro parámetros usando GraphPad Prism (software GraphPad v 5.0, San Diego, CA). Los datos se expresaron como porcentaje relativo de viabilidad celular (contenido de ATP) frente a la dosis de anticuerpo en nM.

**15 Ejemplo 6: Unión celular basada en FACS para determinar la reactividad cruzada con CD74 de mono cinomolgo**

Las células CHO se transfectaron para expresar de forma estable CD74 a partir de mono cinomolgo (cyno-CD74; GI # s 544440372, gen; 544440373, proteína) en la superficie celular. Las células CHO parentales y CHO-cyno-CD74 estables se lavaron dos veces con solución salina equilibrada de Hanks sin calcio y magnesio (HBSS), se cosecharon con HyQTase® (Hyclone, Thermo Scientific, Waltham, MA) y se suspendieron en tampón FACS (tampón DPBS suplementado con albúmina de suero bovino al 1 %). Un total de 200.000 células por muestra se incubaron en hielo durante 60 minutos con 100 nM de anticuerpos anti-CD74. Las células se lavaron dos veces con tampón FACS helado y se incubaron con 5 µg / ml de anticuerpo anti-Fcy de cabra marcado con Alexa Fluor®-647 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA) en hielo durante 60 minutos. Las células sin teñir, IgG1 humana (control de isotipo) y anticuerpo secundario se utilizaron como controles. Las muestras se lavaron dos veces usando tampón FACS y se analizaron usando un sistema BD FACSCalibur™ (BD BioSciences, San Jose, CA). Las intensidades medias de fluorescencia se representaron con GraphPad Prism (software GraphPad v 5.00, San Diego, CA).

Los siguientes ocho anticuerpos exhibieron reactividad cruzada con el CD74 de mono cinomolgo:

1. HC 1251\_A06 / LC 1275\_C10
2. HC 1251\_B08 / LC 1275\_C10
3. HC 1251\_B09 / LC 1275\_C10

**40 Ejemplo 7: Anticuerpos anti-CD74 scFv producidos por aleatorización de las CDR de V<sub>H</sub>**

La Tabla 2 proporciona los datos de  $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ,  $R_{máx}$ ,  $\chi^2$  y ADC para cuatro clones de scFv seleccionados de una biblioteca de scFv con CDR de V<sub>H</sub> aleatorizadas. Los scFvs se basan en la línea germinal de cadena pesada VH3-23 y la línea germinal de cadena ligera Vk3-A27.

**Tabla 2.** Características de 1193 clones de scFv.

ID del clon	Descripción de la muestra	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$R_{max}$ (UR)	$\chi^2$ (UR <sup>2</sup> )	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1193-B06 (SEQ ID NO: 221)	Selección de scFv VH3-23 Vk3-A27 HC solo aleatorización	9,46E+05	2,74E-02	2,90E-08	59,29	0,95	10,32
1193-C08 (SEQ ID NO: 222)		1,16E+05	9,08E-03	7,82E-08	18,8	0,13	~ 8,664
1193-E06b (SEQ ID NO: 223)		9,75E+05	6,51 E-04	6,68E-10	116,49	13,42	8,667
1193-H04b (SEQ ID NO: 224)		1,29E+05	8,24E-03	6,38E-08	44,61	5,15	~ 14,77

**Ejemplo 8: Anticuerpos Fab anti-CD74 producidos por aleatorización de CDR de cadena pesada**

La Tabla 3 proporciona los datos de  $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ,  $R_{máx}$ ,  $\chi^2$  y de ADC secundario para cuatro clones Fab

seleccionados de una biblioteca de Fab con CDR de cadena pesada aleatorizada. Todas las cadenas pesadas se emparejaron con la cadena ligera de trastuzumab (SEQ ID NO:290).

**Tabla 3.** Características de 1198 clones de cadenas pesadas.

ID del clon de V <sub>H</sub>	Descripción de la muestra	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>d</sub> (M)	R <sub>max</sub> (UR)	Chi <sup>2</sup> (UR <sup>2</sup> )	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1198-A01 (SEQ ID NO: 230)	Selección Fab con biblioteca HC emparejada con trastuzumab LC,	1,79E+05	1,19E-03	6,60E-09	21,54	0,91	~ 279,5
1198-B10 (SEQ ID NO: 231)		2,41E+05	2,86E-03	1,19E-08	6,8	0,53	~ 7,607E+07
1198-D03 (SEQ ID NO: 232)		1,95E+06	6,36E-03	3,25E-09	51,66	8,84	~ 2,695E+09
1198-D04 (SEQ ID NO: 233)		2,68E+05	1,77E-03	6,58E-09	19,9	1,2	~ 186,7

5

#### Ejemplo 9: Cadenas pesadas anti-CD74 producidas por aleatorización de CDR de cadena pesada

La Tabla 4 proporciona los datos de k<sub>a</sub>, k<sub>d</sub>, K<sub>D</sub>, R<sub>máx</sub>, Chi<sup>2</sup>, y datos secundarios de ADC para secuencias de trece cadenas pesadas seleccionadas de una biblioteca de Fab con CDR aleatorios suaves, emparejadas con una cadena ligera que tiene una secuencia VL proporcionada en la SEQ ID NO: 272. La aleatorización suave se realizó utilizando una mezcla de 70% de nucleótidos de tipo salvaje (es decir, padres) y 10% de cada uno de los tres nucleótidos restantes para cada posición dentro de un codón. Los anticuerpos se basan en la línea germinal de la cadena pesada VH3-33 y la línea germinal de la cadena ligera Vk1-12.

10

15

**Tabla 4.** Características de 1251 clones de cadenas pesadas.

ID del clon de V <sub>H</sub>	Descr. de la muestra	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>d</sub> (M)	R <sub>max</sub> (UR)	Chi <sup>2</sup> (UR <sup>2</sup> )	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1251-A02 (SEQ ID NO: 234)	VH3-33 VK1-12 (HC suave al azar)	1,51E+06	3,02E-04	2,00E-10	124,1	7,21	0,009
1251-A03 (SEQ ID NO: 235)		1,65E+06	3,05E-04	1,84E-10	118,8	8,58	0,010
1251-A06 (SEQ ID NO: 236)		8,73E+05	9,99E-05	1,14E-10	105,4	3,93	0,0002
1251-B08 (SEQ ID NO: 238)		4,75E+05	1,06E-04	2,24E-10	157,2	2,65	0,007
1251-B09 (SEQ ID NO: 240)		9,68E+05	2,18E-04	2,25E-10	142,4	3,79	0,007
1251-C03 (SEQ ID NO: 242)		7,22E+05	1,18E-03	1,63E-09	76	1,57	0,050
1251-D02 (SEQ ID NO: 243)		8,85E+05	1,67E-04	1,89E-10	74,1	2,14	0,014
1251-D06 (SEQ ID NO: 244)		2,30E+06	1,73E-04	7,52E-11	161,2	18	0,004
1251-D09 (SEQ ID NO: 245)		9,89E+05	1,37E-04	1,39E-10	107,1	5,7	0,007
1251-E06 (SEQ ID NO: 246)		1,13E+06	4,26E-04	3,76E-10	143,9	8,25	0,015
1251-F06 (SEQ ID NO: 247)		2,15E+06	7,79E-04	3,63E-10	82,8	4,93	0,017
1251-F07 (SEQ ID NO: 248)		6,78E+05	1,25E-04	1,85E-10	123,8	6,16	0,009
1251-G02 (SEQ ID NO: 249)		1,29E+06	8,40E-04	6,51E-10	130,4	7,78	0,013

#### Ejemplo 10: Cadenas ligeras anti-CD74 producidas por aleatorización de CDR de cadena ligera

La Tabla 5 proporciona los datos de k<sub>a</sub>, k<sub>d</sub>, K<sub>D</sub>, R<sub>máx</sub>, Chi<sup>2</sup> y secundarios de ADC para cuatro cadenas ligeras seleccionadas de una biblioteca de Fab con CDR aleatorios suaves, emparejado con una de dos cadenas pesadas (HC 1251-A06 (SEQ ID NO:310); o HC 1251-F07 (SEQ ID NO: 311)) en formato de Fab. Los anticuerpos se basan

20

en la línea germinal de la cadena pesada VH3-33 y la línea germinal de la cadena ligera VK1-12.

**Tabla 5.** Características de 1275 clones de cadena ligera.

ID del clon de VL Del CLON	Descripción de la muestra	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_d$ (M)	Rmax (UR)	Chi <sup>2</sup> (UR <sup>2</sup> )	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1275-C10 (SEQ ID NO: 256)	HC 1251-A06 / VK1-12 (aleatorización suave de LC)	9,01E+05	2,34E-04	2,60E-10	61,7	0,438	0,0034
1275-D01 (SEQ ID NO: 258)	HC 1251-A06 / VK1-12 (aleatorización suave de LC)	6,59E+05	4,75E-04	7,21E-10	18,6	0,118	0,0003
1275-D10 (SEQ ID NO: 259)	HC 1251-A06 / VK1-12 (aleatorización suave de LC)	4,20E+05	2,35E-04	5,59E-10	175,6	1,93	0,0070
1275-G02 (SEQ ID NO: 260)	HC 1251-F07 / VK1-12 (aleatorización suave de LC)	5,63E+05	2,97E-04	5,28E-10	107,4	1,47	0,0200

5 **Ejemplo 11: Cadenas de luz fab anti-CD74 adicionales producidas por aleatorización de CDR de cadena ligera**

La Tabla 6 proporciona los datos de  $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ , R<sub>máx</sub>, Chi<sup>2</sup> y datos secundarios de ADC para siete cadenas ligeras seleccionadas de una biblioteca de Fabs con CDR de cadena ligera aleatoria, emparejados con V<sub>H</sub> 1251-A06 (SEQ ID NO: 236) en formato Fab. Los anticuerpos se basan en la línea germinal de la cadena pesada VH3-33 y la línea germinal de la cadena ligera VK1-12.

10

**Tabla 6.** Características de 1337 clones de cadena ligera.

ID del clon de VL Del CLON	Descr. de la muestra	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_d$ (M)	Rmax (UR)	Chi <sup>2</sup> (UR <sup>2</sup> )	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1337-A04 (SEQ ID NO: 261)	HC 1251-A06 / VK1-12 (biblioteca de LC)	7,75E+05	1,23E-04	1,58E-10	355,9	0,961	0,004
1337-A05 (SEQ ID NO: 262)		8,69E+05	1,56E-04	1,79E-10	326,9	2,9	0,004
1337-A06 (SEQ ID NO: 263)		7,85E+05	1,44E-04	1,84E-10	258	0,311	0,004
1337-A07 (SEQ ID NO: 265)		7,85E+05	1,41E-04	1,80E-10	138,3	0,895	0,004
1337-A08 (SEQ ID NO: 266)		7,49E+05	1,34E-04	1,78E-10	107,5	0,321	0,007
1337-A09 (SEQ ID NO: 267)		9,94E+05	1,34E-04	1,35E-10	146,5	2,38	0,004
1337-A10 (SEQ ID NO: 269)		9,35E+05	1,61E-04	1,72E-10	117,6	1,04	0,006

15 **Ejemplo 12: Anticuerpos Fab anti-CD74 producidos por mutagénesis dirigida por trinucleótidos (TRIM)**

La Tabla 7 proporciona datos secundarios de ADC para dos cadenas pesadas seleccionadas de una biblioteca de Fabs generados por mutagénesis dirigida por trinucleótidos (TRIM). Véase la Patente de Estados Unidos n.º 5.869.644. Las cadenas pesadas se emparejaron con la cadena ligera de trastuzumab (SEQ ID NO:290).

20

**Tabla 7.** Datos de ADC secundarios para 1445 clones de Fab TRIM.

ID del clon de V <sub>H</sub>	Descripción de la muestra	2a Destrucción de células ADC CI <sub>50</sub> , nM
1445-A03 (SEQ ID NO: 250)	CD74 Fab TRIM selección	~ 0,7
1445-B09 (SEQ ID NO: 251)		~ 0,45

**Ejemplo 13: Anticuerpos anti-CD74 scFv-Fc producidos por aleatorización suave**

25 La Tabla 8 proporciona datos secundarios de ADC para cuatro clones scFv-Fc generados a partir de la aleatorización suave de 1193-E06b scFvs. Véase Wang y col., (Cancer Res., 2011, 71:7410-7422) para un ejemplo de construcciones scFv-Fc.

**Tabla 8.** Datos de ADS secundarios para 1447 clones scFv-Fc.

ID del clon	Descripción de la muestra	2a Destrucción de células ADC Cl <sub>50</sub> , nM
1447-F11 (SEQ ID NO: 227)	TRIM Longitud del bucle scFv-Fc, CD74 1193-E06b AffMat	~ 0,9
1447-E08 (SEQ ID NO: 226)		~ 2,56
1447-D11 (SEQ ID NO: 225)		~ 1,35
1447-G01 (SEQ ID NO: 228)		~ 0,65

**Ejemplo 14: Propiedades biofísicas y actividad biológica de pares de cadenas pesadas y cadenas ligeras seleccionadas en formato IgG**

5 La Tabla 9 proporciona una matriz de pares de cadena pesada y cadena ligera que se evaluaron. En la Tabla 9, "(p)" indica que la cadena pesada o la cadena ligera se usaron como aisladas de la biblioteca respectiva (es decir, sin revertir los residuos mutados a los residuos encontrados en el gen de la línea germinal canónica). Por el contrario, "(g)" indica que la secuencia de la cadena pesada o de la cadena ligera se ha alterado para restaurar los residuos marco mutados a los restos que se encuentran más comúnmente en la posición respectiva para una línea germinal particular. Pueden surgir restos marco mutados, por ejemplo, de errores introducidos durante la amplificación de las regiones variables durante la clonación.

10 15 Los números de identificación de secuencia en la Tabla 9 se refieren a las moléculas como realmente probadas, es decir, con un resto de metionina (M) N-terminal y, en algunos casos, un marcador en C-terminal con la secuencia GGSHHHHHH (SEQ ID NO:303). Estas secuencias son opcionales. Las secuencias de las regiones constantes de la cadena pesada y las regiones constantes de la cadena ligera utilizadas para producir las cadenas pesada y ligera se proporcionan en las SEQ ID NO: 304 (constante de HC) y 305 (constante de LC).

20

Tabla 9. Matriz de pares de HC / IC evaluados.

	<b>1275_C10 (p)</b> SEQ ID NO: 295	<b>LC 1275_C10(g)</b> SEQ ID NO: 296	<b>1337_A07 (p)</b> SEQ ID NO: 297	<b>LC 1337_A07 (g)</b> SEQ ID NO: 298	<b>1337_A09 (p)</b> SEQ ID NO: 299	<b>LC 1337_A09 (g)</b> SEQ ID NO: 300	<b>1337_A10 (p)</b> SEQ ID NO: 301	<b>LC 1337_A10 (g)</b> SEQ ID NO: 302
<b>HC 1251_A06 (p)</b> SEQ ID NO: 291	1251_A06 (p)/ 1275_C10 (p)	1251_A06 (p)/ 1275_C10 (g)	1251_A06 (p)/ 1337_A07 (p)	1251_A06 (p)/ 1337_A07 (g)	1251_A06 (p)/ 1337_A09 (p)	1251_A06 (p)/ 1337_A09 (g)	1251_A06 (p)/ 1337_A10 (p)	1251_A06 (p)/ 1337_A10 (g)
<b>HC 1251_A06 (g)</b> SEQ ID NO: 292	1251_A06(g) /1275_C10 (p)	1251_A06 (g)/ 1275_C10 (g)	1251_A06(g) /1337_A07 (p)	1251_A06 (g)/ 1337_A07 (g)	1251_A06 (g)/ 1337_A09 (p)	1251_A06 (g)/ 1337_A09 (g)	1251_A06(g) /1337_A10 (p)	1251_A06 (g)/ 1337_A10 (g)
<b>HC 1251_B08 (p)</b> SEQ ID NO: 293	1251_B08 (p)/ 1275_C10 (p)	1251_B08 (p)/ 1275_C10 (g)	1251_B08 (p)/ 1337_A07 (p)	1251_B08 (p)/ 1337_A07 (g)	1251_B08 (p)/ 1337_A09 (p)	1251_B08 (p)/ 1337_A09 (g)	1251_B08 (p)/ 1337_A10 (p)	1251_B08 (p)/ 1337_A10 (g)
<b>HC 1251_B08 (g)</b> SEQ ID NO: 294	1251_B08 (g) /1275_C10 (p)	1251_B08 (g)/ 1275_C10 (g)	1251_B08 (g) /1337_A07 (p)	1251_B08 (g)/ 1337_A07 (g)	1251_B08 (g)/ 1337_A09 (p)	1251_B08 (g)/ 1337_A09 (g)	1251_B08 (g) /1337_A10 (p)	1251_B08 (g)/ 1337_A10 (g)

Otras cadenas pesadas producidas y analizadas en combinación con las cadenas ligeras 1275-C10, 1337-A04, 1337-A-7, 1337-A09, y1337-A10 incluyen 1251-A03 (SEQ ID NO: 306), 1251-B09 (SEQ ID NO: 307) y 1251-B10 (SEQ ID NO: 308).

- 5 La Tabla 10 proporciona los datos de  $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ,  $R_{\max}$ ,  $\text{Chi}^2$  y ADC secundarios para los 32 pares de cadenas ligeras-cadenas pesadas proporcionados en la Tabla 9.

**Tabla 10.** Características de los pares HC/IC.

ID del CLON	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$R_{\max}$ (UR)	$\text{Chi}^2$ (UR <sup>2</sup> )	2A ACTIVIDAD DE DESTRUCCIÓN CELULAR CI50, nM
HC 1251_A06 (p)/IC 1275_C10 (p)	6,54E+05	1,60E-04	2,45E-10	264,7	1,6	0,008
HC 1251_A06 (p)/IC 1275_C10 (g)	4,78E+05	1,66E-04	3,48E-10	360,2	0,7	0,01
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A09 (p)	5,88E+05	9,19E-05	1,56E-10	289,1	1,1	0,01
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A09 (g)	6,10E+05	1,10E-04	1,80E-10	229,9	1,2	0,011
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A07 (p)	5,98E+05	1,00E-04	1,68E-10	320,8	2,1	0,007
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A07 (g)	6,60E+05	1,36E-04	2,05E-10	269,4	1,3	0,01
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A10 (p)	8,47E+05	1,74E-04	2,05E-10	203,0	1,1	0,006
HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A10 (g)	5,71E+05	2,35E-04	4,11E-10	333,9	1,0	0,011
HC 1251_A06 (g)/IC 1275_C10 (p)	5,20E+05	1,77E-04	3,41 E-10	246,5	0,8	0,01
HC 1251_A06 (g)/IC 1275_C10 (g)	7,05E+05	1,48E-04	2,09E-10	311,5	4,2	0,007
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A09 (p)	4,57E+05	8,63E-05	1,89E-10	388,4	2,3	0,004
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A09 (g)	5,52E+05	7,26E-05	1,31 E-10	342,9	2,7	0,002
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A07 (p)	5,68E+05	9,40E-05	1,66E-10	333,8	1,0	0,001
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A07 (g)	4,24E+05	7,10E-05	1,68E-10	396,8	0,8	0,005
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A10 (p)	4,79E+05	9,03E-05	1,88E-10	407,6	1,5	0,002
HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A10 (g)	3,80E+05	1,48E-04	3,89E-10	326,1	2,8	0,005
HC 1251_B08 (p)/IC 1275_C10 (p)	6,23E+05	1,19E-04	1,91 E-10	318,8	6,9	0,01
HC 1251_B08 (p)/IC 1275_C10 (g)	2,84E+05	1,24E-04	4,37E-10	335,0	4,4	0,013
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A09 (p)	1,07E+06	1,16E-04	1,08E-10	213,3	2,3	0,006
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A09 (g)	3,32E+05	1,15E-04	3,47E-10	268,2	1,5	0,016
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A07 (p)	3,79E+05	8,01 E-05	2,11E-10	265,4	2,4	0,016
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A07 (g)	2,32E+05	1,42E-04	6,11E-10	228,1	0,8	0,037
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A10 (p)	4,91E+05	1,15E-04	2,35E-10	292,8	0,4	0,017
HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A10 (g)	1,91E+05	1,83E-04	9,57E-10	208,5	0,1	0,046
HC 1251_B08 (g)/IC 1275_C10 (p)	1,80E+05	1,55E-04	8,62E-10	304,1	0,4	0,018
HC 1251_B08 (g)/IC 1275_C10 (g)	3,06E+05	1,02E-04	3,32E-10	400,0	0,5	0,011

(continuación)

ID del CLON	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_d$ (M)	$R_{max}$ (UR)	$\chi^2$ (UR <sup>2</sup> )	2A ACTIVIDAD DE DESTRUCCIÓN CELULAR CI50, nM
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A09 (p)	1,66E+05	1,06E-04	6,40E-10	331,0	0,3	0,025
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A09 (g)	3,09E+05	7,77E-05	2,52E-10	351,5	2,4	0,01
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A07 (p)	2,65E+05	9,23E-05	3,49E-10	394,2	2,8	0,013
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A07 (g)	3,25E+05	7,76E-05	2,39E-10	388,6	1,9	0,006
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A10 (p)	3,12E+05	1,20E-04	3,85E-10	425,5	2,2	0,003
HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A10 (g)	3,92E+05	9,97E-05	2,54E-10	496,7	3,6	0,007

**Ejemplo 15: Afinidad de scFv-Fc anti-CD74 (1251-B08-gm\_1337-A09-gm) para CD74**

- 5 Las secuencias de la cadena pesada 1251-B08- (g) y la cadena ligera 1337-A09- (g) están formateadas en un formato scFv-Fc. La secuencia de aminoácidos del scFv-Fc se proporciona en la SEQ ID NO:229. La secuencia de aminoácidos de la región constante de Fc se proporciona en SEQ ID NO:309.

- 10 El ScFv-Fc purificado se captura en una superficie de Fc antihumano a una concentración de 10 µg / ml y diferentes concentraciones de antígeno (20 nM, 10 nM, 5 nM y 0 nM de CD74 humano, R&D Systems) se pasan sobre la superficie del chip al que está unido el ScFv-Fc. Los datos se ajustan a un modelo de enlace 1:1 utilizando el software de evaluación BIACORE. La Tabla 11 muestra los datos de  $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ,  $R_{máx}$  y  $\chi^2$  para este scFv-Fc.

**Tabla 11.** Características del clon scFv-Fc.

ID del CLON	Descripción	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_d$ (M)	$R_{max}$ (UR)	$\chi^2$ (RU <sup>2</sup> )
SP-007377 (SEQ ID NO: 229)	1251-B08-gm_1337_A09-gm ScFvFc	3,38E+05	1,20E-04	3,54E-10	146,7	0,111

15

**Ejemplo 16: Estabilidad térmica de anticuerpos IgG anti-CD74 aglicosilados**

- 20 Este ejemplo describe experimentos diseñados para medir la estabilidad térmica ( $T_m$ ) del anticuerpo parental anti-CD74 aglicosilado y sus variantes. El ensayo de cambio térmico se llevó a cabo mezclando la proteína a analizar (anticuerpo anti-CD74 original y variantes) con un tinte ambientalmente sensible (SYPRO Orange, Life Technologies Cat # S-6650) en una solución tamponada con fosfato (PBS), y monitoreando la fluorescencia de la mezcla en tiempo real a medida que se sometió a desnaturalización térmica controlada. La concentración final de la proteína en la mezcla de ensayo estaba entre 100-250 µg / ml, y el colorante se diluyó 1: 1000 del stock original (el colorante de stock es 5000X en DMSO). Después de dispensar alícuotas de 5 µl de la mezcla de proteína y colorante en una microplaca de 384 pocillos (Bio-Rad Cat # MSP-3852), la placa se selló con una película de sellado ópticamente transparente (Bio-Rad Cat # MSB-1001), y colocado en un termociclador en tiempo real de placa de 384 pocillos (Bio-Rad CFX384 Real Time System). La mezcla de proteína y colorante se calentó de 25 °C a 95 °C, a incrementos de 0,1 °C por ciclo (~ 1,5 °C por minuto), permitiendo 3 segundos de equilibrio a cada temperatura antes de tomar una medición de fluorescencia. Al final del experimento, las temperaturas de fusión ( $T_{m1}$  y  $T_{m2}$ ) se determinaron utilizando el software de gestión Bio-Rad CFX.  $T_{m1}$  representa la fusión del dominio Fc.  $T_{m2}$  representa la fusión del dominio Fab. La  $T_{m2}$  para ciertos anticuerpos ilustrativos proporcionados en la presente divulgación es mayor que la  $T_{m2}$  para el anticuerpo parenta.

- 35 Para muestras de proteínas con perfiles de transición térmica complejos, las temperaturas de fusión se calculan a partir del gráfico derivado negativo de primer orden de la intensidad de fluorescencia (eje Y) frente a la temperatura (eje X), o ajustando los datos al modelo sigmoide de Boltzmann. La diferencia en las temperaturas de fusión de las variantes anti-CD74 en comparación con la proteína de tipo salvaje es una medida del cambio térmico para la proteína que se analiza. Los resultados para estos estudios se proporcionan en la Tabla 12.

40

**Tabla 12.** Datos de termoestabilidad para anticuerpos anti-CD-74 IgG.

ID de la proteína	Descripción	$T_{m1}$ (°C)	$T_{m2}$ (°C)
Estudio 50-31-A03	HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A09 (p) (SEQ ID NO: 291 / 299)	62,2	75,4
Estudio 50-31-A05	HC 1251_A06 (p)/IC 1337_A07 (p) (SEQ ID NO: 291 / 299)	62,2	75,0
Estudio 50-31-C03	HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A09 (p) (SEQ ID NO: 293 / 299)	62,3	78,6
Estudio 50-31-C05	HC 1251_B08 (p)/IC 1337_A07 (p) (SEQ ID NO: 293 / 297)	62,2	77,6
Estudio 50-31-B04	HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A09 (g) (SEQ ID NO: 292 / 300)	59,9	76,3



(continuación)

ID de la proteína	Descripción	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)
Estudio 50-31-B06	HC 1251_A06 (g)/IC 1337_A07 (g) (SEQ ID NO: 292 / 298)	59,6	76,8
Estudio 50-31-D04	HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A09 (g) (SEQ ID NO: 294 / 300)	59,7	77,6
Estudio 50-31-D06	HC 1251_B08 (g)/IC 1337_A07 (g) (SEQ ID NO: 294 / 298)	59,7	79,6
Estudio 50-31-E01	HC VH19 (p)/IC VL26 (p) (VH / VL SEQ ID NO: 252 / 272)	62,2	73,4

\* Cuando no están incluidas en la secuencia, las regiones constantes de la cadena pesada y la cadena ligera fueron las SEQ ID NO 304 y 305, respectivamente.

**Ejemplo 17: Secuencias**

5 La tabla 13 proporciona secuencias a las que se hace referencia en el presente documento.

**Tabla 13.** Secuencias.

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
1	1193-B06	CDR-H1	Chothia	GFTFTGN
2	1193-C08	CDR-H1	Chothia	GFTFNNN
3	1193-E06b	CDR-H1	Chothia	GFTFNNT
4	1193-H04b	CDR-H1	Chothia	GFTFTSS
5	1198-A01	CDR-H1	Chothia	GFTFSDY
6	1198-B10	CDR-H1	Chothia	GFNISGS
7	1198-D03	CDR-H1	Chothia	GFNINNY
8	1198-D04	CDR-H1	Chothia	GFNINNY
9	1251-A02	CDR-H1	Chothia	GFAFSDH
10	1251-A03	CDR-H1	Chothia	GFAFSDH
11	1251-A06	CDR-H1	Chothia	GDFSSY
12	1251-B08	CDR-H1	Chothia	GFNFSDY
13	1251-B09	CDR-H1	Chothia	GFNFSDY
14	1251-B10	CDR-H1	Chothia	GFNFSSH
15	1251-C03	CDR-H1	Chothia	GFNFSSY
16	1251-D02	CDR-H1	Chothia	GFSFASH
17	1251-D06	CDR-H1	Chothia	GFSFGSY
18	1251-D09	CDR-H1	Chothia	GFSFSSY
19	1251-E06	CDR-H1	Chothia	GFTFDSY
20	1251-F06	CDR-H1	Chothia	GFTFSSF
21	1251-F07	CDR-H1	Chothia	GFTFSSH
22	1251-G02	CDR-H1	Chothia	GFTFSSY
23	1445-A03	CDR-H1	Chothia	GFNISGY
24	1445-B09	CDR-H1	Chothia	GFNITGT
25	1447-D11	CDR-H1	Chothia	GFTFNNT
26	1447-E08	CDR-H1	Chothia	GFTFNNT
27	1447-F11	CDR-H1	Chothia	GFTFDNT
28	1447-G01	CDR-H1	Chothia	GFTFNNTS
29	VH11-[19]	CDR-H1	Chothia	GFTFSSY
30	VH5-[7]	CDR-H1	Chothia	GFTFSSY
31	VH6-[11]	CDR-H1	Chothia	GFTFSSY
32	VH8-[15]	CDR-H1	Chothia	GFTFSSY
33	1193-B06	CDR-H1	Kabat	GNWMS
34	1193-C08	CDR-H1	Kabat	NNWMS
35	1193-E06b	CDR-H1	Kabat	NTDMS
36	1193-H04b	CDR-H1	Kabat	SSWMS
37	1198-A01	CDR-H1	Kabat	DYDMS
38	1198-B10	CDR-H1	Kabat	GSWIH
39	1198-D03	CDR-H1	Kabat	NYDIH
40	1198-D04	CDR-H1	Kabat	NYDIH
41	1251-A02	CDR-H1	Kabat	DHGMH
42	1251-A03	CDR-H1	Kabat	DHGMH
43	1251-A06	CDR-H1	Kabat	SYGMH
44	1251-B08	CDR-H1	Kabat	DYGMH
45	1251-B09	CDR-H1	Kabat	DYGMH
46	1251-B10	CDR-H1	Kabat	SHGMH
47	1251-C03	CDR-H1	Kabat	SYGMH

ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
48	1251-D02	CDR-H1	Kabat	SHGMH
49	1251-D06	CDR-H1	Kabat	SYGMH
50	1251-D09	CDR-H1	Kabat	SYGMH
51	1251-E06	CDR-H1	Kabat	SYGMH
52	1251-F06	CDR-H1	Kabat	SFGMH
53	1251-F07	CDR-H1	Kabat	SHGMH
54	1251-G02	CDR-H1	Kabat	SYGMH
55	1445-A03	CDR-H1	Kabat	GYYIH
56	1445-B09	CDR-H1	Kabat	GTGIH
57	1447-D11	CDR-H1	Kabat	NTDMS
58	1447-E08	CDR-H1	Kabat	DTDMS
59	1447-F11	CDR-H1	Kabat	NTDMS
60	1447-G01	CDR-H1	Kabat	TSDMS
61	VH11-[19]	CDR-H1	Kabat	SYGMH
62	VH5-[7]	CDR-H1	Kabat	SYAMH
63	VH6-[11]	CDR-H1	Kabat	SYAMH
64	VH8-[15]	CDR-H1	Kabat	SYAMH
65	1193-B06	CDR-H2	Chothia	YGTSGA
66	1193-C08	CDR-H2	Chothia	NGDDGY
67	1193-E06b	CDR-H2	Chothia	NGSGGA
68	1193-H04b	CDR-H2	Chothia	NGYNGI
69	1198-A01	CDR-H2	Chothia	AQDGSY
70	1198-B10	CDR-H2	Chothia	YPDDGD
71	1198-D03	CDR-H2	Chothia	DPYNGA
72	1198-D04	CDR-H2	Chothia	DPYNGT
73	1251-A02	CDR-H2	Chothia	WYDGSH
74	1251-A03	CDR-H2	Chothia	WYDGSH
75	1251-A06	CDR-H2	Chothia	WDDGSD
76	1251-B08	CDR-H2	Chothia	WYDGSI
77	1251-B09	CDR-H2	Chothia	WYDGSR
78	1251-B10	CDR-H2	Chothia	WHDGSD
79	1251-C03	CDR-H2	Chothia	WYDGSI
80	1251-D02	CDR-H2	Chothia	WDDGSD
81	1251-D06	CDR-H2	Chothia	WYDGSK
82	1251-D09	CDR-H2	Chothia	WYDASI
83	1251-E06	CDR-H2	Chothia	WYDGSN
84	1251-F06	CDR-H2	Chothia	WYDGSN
85	1251-F07	CDR-H2	Chothia	WDDGSN
86	1251-G02	CDR-H2	Chothia	WHDGSK
87	1445-A03	CDR-H2	Chothia	SPTGGY
88	1445-B09	CDR-H2	Chothia	TPYNGT
89	1447-D11	CDR-H2	Chothia	NGSGGS
90	1447-E08	CDR-H2	Chothia	NGAGGA
91	1447-F11	CDR-H2	Chothia	NGSGGV
92	1447-G01	CDR-H2	Chothia	NGSGGA
93	VH11-[19]	CDR-H2	Chothia	WYDGSN
94	VH5-[7]	CDR-H2	Chothia	SYDGSN
95	VH6-[11]	CDR-H2	Chothia	SYDGSI
96	VH8-[15]	CDR-H2	Chothia	SYDGSN
97	1193-B06	CDR-H2	Kabat	IYGTSGATYYADSVKG

ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
98	1193-C08	CDR-H2	Kabat	IINGDDGYTTYADRVK G
99	1193-E06b	CDR-H2	Kabat	IINGSGGATNYADSVK G
100	1193-H04b	CDR-H2	Kabat	IINGYNGITYYADSVKG
101	1198-A01	CDR-H2	Kabat	FIAQDGSYKYYVDSVK G
102	1198-B10	CDR-H2	Kabat	YIYPDDGDTYYADSVK G
103	1198-D03	CDR-H2	Kabat	NIDPYNGATYYADSVK G
104	1198-D04	CDR-H2	Kabat	NIDPYNGTTTYADSVK G
105	1251-A02	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSCHKIYADSVK G
106	1251-A03	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSCHKIYADSVK G
107	1251-A06	CDR-H2	Kabat	VIWDDGSDRYYADSVK G
108	1251-B08	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSISYYADSVK G
109	1251-B09	CDR-H2	Kabat	VTWYDGSREYYADSV KG
110	1251-B10	CDR-H2	Kabat	VIWHDGSDKYYADSVK G
111	1251-C03	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSIKNYADSVK G
112	1251-D02	CDR-H2	Kabat	VIWDDGSDRYYADSVK G
113	1251-D06	CDR-H2	Kabat	VVWYDGSKTIYADSVK G
114	1251-D09	CDR-H2	Kabat	VIWYDASIRKYAGSVK G
115	1251-E06	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSNKYYADSVK G
116	1251-F06	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSNEYADSVK G
117	1251-F07	CDR-H2	Kabat	VIWDDGSNEYADSVK G
118	1251-G02	CDR-H2	Kabat	VIWHDGSKDYADSVK G
119	1445-A03	CDR-H2	Kabat	EISPTGGYTTYADSVK G
120	1445-B09	CDR-H2	Kabat	IITPYNGTTNYADSVKG
121	1447-D11	CDR-H2	Kabat	VINGSGGSSNYADSVK G
122	1447-E08	CDR-H2	Kabat	MINGAGGASFYADSVR G
123	1447-F11	CDR-H2	Kabat	IINGSGGVTNYADSVR G
124	1447-G01	CDR-H2	Kabat	IINGSGGATNYADSVK G
125	VH11-[19]	CDR-H2	Kabat	VIWYDGSNKYYADSVK G
126	VH5-[7]	CDR-H2	Kabat	VISYDGSNKYYADSVK G

ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
127	VH6-[11]	CDR-H2	Kabat	VISYDGSIKYYADSVKG
128	VH8-[15]	CDR-H2	Kabat	VISYDGSNKYYADSVK G
129	1193-B06	CDR-H3	K/C	PSMSGSRGFDY
130	1193-C08	CDR-H3	K/C	VALGRPRRFDY
131	1193-E06b	CDR-H3	K/C	FENEWEVSM DY
132	1193-H04b	CDR-H3	K/C	PSAPGARRFDY
133	1198-A01	CDR-H3	K/C	SKLFRAGQFDY
134	1198-B10	CDR-H3	K/C	EGSHNLDKMDY
135	1198-D03	CDR-H3	K/C	VLWGFWAPFDY
136	1198-D04	CDR-H3	K/C	VPWGFWAPFDY
137	1251-A02	CDR-H3	K/C	GGSLAGGAVYGT DV
138	1251-A03	CDR-H3	K/C	GGSLAGGAVYGT DV
139	1251-A06	CDR-H3	K/C	GGTRVLGAIHGTDV
140	1251-B08	CDR-H3	K/C	GGTVEHGAVYGT DV
141	1251-B09	CDR-H3	K/C	GGTLVHGALYGN DV
142	1251-B10	CDR-H3	K/C	GGTRVLGAVYGL DV
143	1251-C03	CDR-H3	K/C	GGALMRGEFSGHDV
144	1251-D02	CDR-H3	K/C	GGTRVLGAIHGTDV
145	1251-D06	CDR-H3	K/C	GGTLVRGAVYGL DV
146	1251-D09	CDR-H3	K/C	GGTVERGAIYGT DV
147	1251-E06	CDR-H3	K/C	GGMVGQGAMFGL DV
148	1251-F06	CDR-H3	K/C	GGSLVTRGVYGL DV
149	1251-F07	CDR-H3	K/C	GGTRIRGLRYGT DV
150	1251-G02	CDR-H3	K/C	GGQLDHGAIYGL DV
151	1445-A03	CDR-H3	K/C	EHGLVYQGPM DY
152	1445-B09	CDR-H3	K/C	GGYGYYP PF DY
153	1447-D11	CDR-H3	K/C	YETEWVSLDY
154	1447-E08	CDR-H3	K/C	FENQWEVTFDY
155	1447-F11	CDR-H3	K/C	YESEWVSLDY
156	1447-G01	CDR-H3	K/C	YENEMEVSMDY
157	VH11-[19]	CDR-H3	K/C	GGTLVRGAMYGT DV
158	VH5-[7]	CDR-H3	K/C	GRYYGSGSYSSYFDY
159	VH6-[11]	CDR-H3	K/C	GREITSQNVILLDY
160	VH8-[15]	CDR-H3	K/C	GREITSQNVILLDY
161	1193-B06	CDR-L1	K/C	RAGQSVSSSYLA
162	1193-C08	CDR-L1	K/C	RASQSVSSNYLA
163	1193-E06b	CDR-L1	K/C	RASQSVSSSYLA
164	1193-H04b	CDR-L1	K/C	RASQSVSSSYLA
165	1275-C10	CDR-L1	K/C	RASQGVSSWLA
166	1275-D01	CDR-L1	K/C	RASQGIGRWLA
167	1275-D10	CDR-L1	K/C	RASQGVFSWLA
168	1275-G02	CDR-L1	K/C	RASQGLGSFLA
169	1337-A04	CDR-L1	K/C	RASQDIGRWVA
170	1337-A05	CDR-L1	K/C	RASQGIGRWVA
171	1337-A06	CDR-L1	K/C	RASQDIGSWVA
172	1337-A07	CDR-L1	K/C	RASQGISSWVA
173	1337-A08	CDR-L1	K/C	RASQDIGSWVA
174	1337-A09	CDR-L1	K/C	RASQGIGSWLA
175	1337-A10	CDR-L1	K/C	RASQGISSWVA
176	1447-D11	CDR-L1	K/C	RASQSVSSSYLA

ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
177	1447-E08	CDR-L1	K/C	RASQRVAGIDLS
178	1447-F11	CDR-L1	K/C	RASQSVYRSYLA
179	1447-G01	CDR-L1	K/C	RASQSVSSRELG
180	VL-5[23] y VL6-[26]	CDR-L1	K/C	RASQGISSWLA
181	1193-B06	CDR-L2	K/C	GASSRAT
182	1193-C08	CDR-L2	K/C	GASSRAT
183	1193-E06b	CDR-L2	K/C	GASSRAT
184	1193-H04b	CDR-L2	K/C	GASSRAT
185	1275-C10	CDR-L2	K/C	SARYLQS
186	1275-D01	CDR-L2	K/C	GRSSLQS
187	1275-D10	CDR-L2	K/C	NATQLQS
188	1275-G02	CDR-L2	K/C	LGNLLQI
189	1337-A04	CDR-L2	K/C	GASSLQS
190	1337-A05	CDR-L2	K/C	GADRLQS
191	1337-A06	CDR-L2	K/C	GADRLQS
192	1337-A07	CDR-L2	K/C	GASRLQS
193	1337-A08	CDR-L2	K/C	ASDSLQS
194	1337-A09	CDR-L2	K/C	AADRLQS
195	1337-A10	CDR-L2	K/C	GSSRLQS
196	1447-D11	CDR-L2	K/C	GASSRAT
197	1447-E08	CDR-L2	K/C	GASSRAT
198	1447-F11	CDR-L2	K/C	GASSRAT
199	1447-G01	CDR-L2	K/C	GASSRAT
200	VL-5[23] y VL6-[26]	CDR-L2	K/C	AASSLQS
201	1193-B06	CDR-L3	K/C	QQHYTTPPT
202	1193-C08	CDR-L3	K/C	QQHYTTPPT
203	1193-E06b	CDR-L3	K/C	QQHYTTPPT
204	1193-H04b	CDR-L3	K/C	QQHYTTPPT
205	1275-C10	CDR-L3	K/C	QQYNLYPLT
206	1275-D01	CDR-L3	K/C	QQYNIYPLT
207	1275-D10	CDR-L3	K/C	QQYYYYPLT
208	1275-G02	CDR-L3	K/C	QQYNAYPLT
209	1337-A04	CDR-L3	K/C	QQYNTYPLT
210	1337-A05	CDR-L3	K/C	QQYNSYPLT
211	1337-A06	CDR-L3	K/C	QQYNSYPLT
212	1337-A07	CDR-L3	K/C	QQYHTYPLT
213	1337-A08	CDR-L3	K/C	QQYNSYPLT
214	1337-A09	CDR-L3	K/C	QQYHTYPLT
215	1337-A10	CDR-L3	K/C	QQYNTYPLT
216	1447-D11	CDR-L3	K/C	QHNQTPPT
217	1447-E08	CDR-L3	K/C	QQHNTTPT
218	1447-F11	CDR-L3	K/C	QQHQTAPPT
219	1447-G01	CDR-L3	K/C	QQQCSWPPT
220	VL-5[23] y VL6-[26]	CDR-L3	K/C	QQYNSYPLT
221	1193-B06	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTF TQRMMSWVRQAPGKLEWVGIYGTSGAI YYADRVKGRFTIIRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARPKSMGSRGFDYWGQGLV TVSSGGGSGGGSGGGSGEIVLQSPGT LSLTPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQ KPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAFYVCOQHYTTPP TFGGQTRVEIK
222	1193-C08	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTF NNNMSWVRQAPGKLEWVGIINDDDGYT YYADRVKGRFTIIRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARVALGRFRFDYWGQGLV TVSSGGGSGGGSGGGSGEIVLQSPGT LSLTPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQ KPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAFYVCOQHYTTPP TFGGQTRVEIK

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
223	1193-E06b	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NNTDMSWVRQAPGKLEWVGIINGSGGAT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARFENEWEVSDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQHTPTTP TFGGGTKVEIK
224	1193-H04b	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF TSVMSWVRQAPGKLEWVGIINGYNGIT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARFENEWEVSDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQHTPTTP TFGGGTKVEIK
225	1447-D11	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NNTDMSWVRQAPGKLEWVGIINGSGGSS NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICAKYETENEVSLDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQHTPTTP TFGGGTKVEIK
226	1447-E08	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NDTDMWVRQAPGKLEWVGIINGAGGAS FYADSVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICAKFENQWVFTDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQVAVGIDLWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQHTPTTP TFGGGTKVEIK
227	1447-F11	scFv		EVQLLESGGGLVQTGGSLRSLSCAASGFTF DNTDMSWVRQAPGKLEWVGIINGSGGVT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICAKYSEWEVSLDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQSVVRSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQHTPTTP TFGGGTKVEIK
228	1447-G01	scFv		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NTDMSWVRQAPGKLEWVGIINGSGGAT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICAKYENEWEVSDYWGQGLTLV TVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGT LSPGERATLSCRASQSVSSRELWYQQ KPGQAPRLLIYGASSTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTIISRLPEDEFAVYCCQCSWFP TFGGGTKVEIK
229	1251-B08-g_1337-A09-g scFv-Fc	scFv-Fc		QVQLVESGGGVVQPGSLRSLSCAASGFNF SDYGMHWVRQAPGKLEWAVIWDGSGIS YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARGSTVEHGAHYGTDVWGQ TIVTVSSGGGGGGGGGGGGSDIQMTQS PSSVSAVSDRVITICRASQIGGSWLANV QKPKGAKFKLLIYAADRLQSGVFSRFSGS GGGTDFTLTISSLPEDFATYCCQHTHTY FLITGGGKVEIKRAGSQQPDYWGQGLTLV CPPCSAPPELLGGSSVFLFPPKPKDITMIS RTEVTCVVDVSHDEPEVRFNVDVGVV VHNAKTEPREEQYNSTRVVSVLTVLHQD WLNKGYKCKYKNAKALPAPTEKTIKRAK QRFEPQVYLLPDRDELTKQKSLTCLWV GFYPSDIAVENEENQPPENNYKTPPVLID SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM HEALRNHYTKSLSLSPKGGSDYKDDDD KSGHHHHH
230	1198-A01	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF SDYDMHWVRQAPGKLEWVGIADGSGYK YYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARSKLFRAGQPDYWGQGLTLV TVSS
231	1198-B10	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNI SGSWIHWVRQAPGKLEWVGIYIPDDGDT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICAREGSHNLDKMDYWGQGLTLV TVSS
232	1198-D03	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNI NNYDIHWVRQAPGKLEWVANIDPYNGAT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARVWGFVWAFPDYWGQGLTLV TVSS
233	1198-D04	VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNI NNYDIHWVRQAPGKLEWVANIDPYNGTT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARVWGFVWAFPDYWGQGLTLV TVSS
234	1251-A02	VH		QVQLVESGGGVVQPGSLRSLSCAASGFAP SDGMMHWVRQAPGKLEWAVIWDGSHK IYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARGSLAGGAVYGDVWGQ TIVTVSS
235	1251-A03	VH		QVQLVESGGGVVQPGSLRSLSCAASGFAP SDGMMHWVRQAPGKLEWAVIWDGSHK IYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARGSLAGGAVYGDVWGQ TIVTVSS
236	1251-A06	VH		QVQLVESGGGVVQPGSLRSLSCAASGFDF SSYGMHWVRQAPGKLEWAVIWDGSDR Y IYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYICARGSTRVLGAHGTVDYWGQ TIVTVSS

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
237	1251-A06-g	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGDFP SSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVDDGSDR Y YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTRVLGAIHGTDVWGQGT TVTIVSS
238	1251-B08	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFNF SDYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSIS Y YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTVHEGAVYGTDVWGQGA TV IVSS
239	1251-B08-g	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFNF SDYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSIS Y YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTVHEGAVYGTDVWGQGT TV IVSS
240	1251-B09	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFNF SDYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSRE Y YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTVLHGALYGNVDVWGQGT TV IVSS
241	1251-B10	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFNF SSHGMHWVRQAPDKGLEWVAIVHDDGSDK Y YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTRVLGAVYGLDVWGQGT TV IVSS
242	1251-C03	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFNF SSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSIK NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGALMRGEPFGHDVWGQG TTVTIVSS
243	1251-D02	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFSP ASHGMHWVRQAPDKGLEWVAIVDDGSDR YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTRVLGAIHGTDVWGQG TTVTIVSS
244	1251-D06	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFSP GSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSKT IYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTLVRGAVYGLDVWGQG TTVTIVSS
245	1251-D09	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFSP SSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDASIR KYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTVRGAIVYGTDVWGQG TTVTIVSS
246	1251-E06	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF DSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSNK VYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGVMGGAMFGLDVWGQG TTVTIVSS
247	1251-F06	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSFGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSNE YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGSLTRGVYGLDVWGQG TTVTIVSS
248	1251-F07	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSHGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSNE VYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTRIRGLRYGTDVWGQG TTVTIVSS
249	1251-G02	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSNK YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGDLHGAIYGLDVWGQG TTVTIVSS
250	1445-A03	VH		EVQLVSGGGLVQPGSLRLSCAASGFNI SCTIHWVRQAPDKGLEWVAIEISPTGGT YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAREHGLVYQPMYWGQGLT VTIVSS
251	1445-B09	VH		EVQLVSGGGLVQPGSLRLSCAASGFNI TGTGIHWVRQAPDKGLEWVGIITPYNGIT NYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTYGYPYPPFDVWGQGLT VTIVSS
252	VH11-[19]	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVYDGSNK YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGTLVRGAMYGTDVWGQG TTVTIVSS
253	VH5-[7]	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSYAMHWVRQAPDKGLEWVAIVSYDGSNK YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCASGRYVGSYSSYFDVWGQ GTLVTIVSS
254	VH6-[11]	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSYAMHWVRQAPDKGLEWVAIVSYDGSNK YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR VEDTAVYYCARGREITSQNIIVLLDYWGQ GTLVTIVTS
255	VH8-[15]	VH		QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTF SSYAMHWVRQAPDKGLEWVAIVSYDGSNK YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGREITSQNIIVLLDYWGQ GTLVTIVSS

ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
256	1275-C10	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGV SSWLAWYQKPEKAPKSLIYSARYLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNLYPLTFGGGTKVEIK
257	1275-C10-g	VL		DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGV SSWLAWYQKPEKAPKLLIYSARYLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNLYPLTFGGGTKVEIK
258	1275-D01	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI GRWLAWYQKPEKAPKSLIYGRSSLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNIYPLTFGGGTKVEIK
259	1275-D10	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGV FSWLAWYQKPEKAPKSLIYNATQLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYVYPLTFGGGTKVEIK
260	1275-G02	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGL GSFLAWYQKPEKAPKSLIYGNLLQIGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNAYPLTFGGGTKVEIK
261	1337-A04	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDI GRVWAWYQKPEKAPKSLIYGASRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNTYPLTFGGGTKVEIK
262	1337-A05	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI GRVWAWYQKPEKAPKSLIYGADRLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
263	1337-A06	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDI GSVWAWYQKPEKAPKSLIYGADRLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
264	1337-A07-g	VL		DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGI SSVWAWYQKPEKAPKLLIYGASRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKVEIK
265	1337-A07	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI SSVWAWYQKPEKAPKSLIYGASRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKVEIK
266	1337-A08	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDI GSVWAWYQKPEKAPKSLIYASDSLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
267	1337-A09	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI GSWLAWYQKPEKAPKSLIYAADRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKVEIK
268	1337-A09-g	VL		DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGI GSWLAWYQKPEKAPKLLIYAADRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKVEIK
269	1337-A10	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI SSVWAWYQKPEKAPKSLIYGSRLQSGV P SRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNTYPLTFGGGTKVEIK
270	1337-A10-g	VL		DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGI SSVWAWYQKPEKAPKLLIYGSRLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNTYPLTFGGGTKVEIK
271	VL5-[23]	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI SSWLAWYQKPEKAPKSLIYAASLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
272	VL6-[26]	VL		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGI SSWLAWYQKPEKAPKSLIYAASLQSGV PSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYC CQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
273	1193-B06	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF TGNWMSVWRQAPGKLEWVGIIYGTSGAT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKFSMSGRGFDYWGQGLTV TVSS
274	1193-C08	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NNWMSVWRQAPGKLEWVGIIINGDDGYT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKVALGRPRFDYWGQGLTV TVSS
275	1193-E06b	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF NNTDMSVWRQAPGKLEWVGIIINGSGGAT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKFEENEWEVSMYWGQGLTV TVSS
276	1193-H04b	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTF TSSWMSVWRQAPGKLEWVGIIINGHGI YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKPSAGARRPDYWGQGLTV TVSS



ES 2 753 551 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
277	1447-D11	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NNTDMSWVRQAPKGLKLEWVGIINGSGGSS NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKYTEWEVSLDYWGQGLTV TVSS
278	1447-E08	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NNTDMSWVRQAPKGLKLEWVGIINGSGGSS FYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKFEHQWEVTFDYWGQGLTV TVSS
279	1447-F11	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF DNTDMSWVRQAPKGLKLEWVGIINGSGGVT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKYESEWEVSLDYWGQGLTV TVSS
280	1447-G01	VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NTSDMSWVRQAPKGLKLEWVGIINGSGGAT NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKYNEMEVSMYDYGQGLTV TVSS
281	1193-B06	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAGQSV SSSYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHYTTPPTFGQGTKVEIK
282	1193-C08	VL		EIVLTQSPGTLSLTPGERATLSCRASQSV SSNYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHYTTPPTFGQGTKVEIK
283	1193-E06b	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSV SSSYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHYTTPPTFGQGTKVEIK
284	1193-H04b	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVS SSYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY CQGHYTPPTFGQGTKVEIK
285	1447-D11	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSV SSSYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHQPTTPTFGQGTKVEIK
286	1447-E08	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSV AGIDLSWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHQPTTPTFGQGTKVEIK
287	1447-F11	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSV YRSYLAWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQHQPTTPTFGQGTKVEIK
288	1447-G01	VL		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSV SSRELWYQQKPKGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCCQCCSWPPTFGQGTKVEIK
289	IgG1 Fc de scFv-Fc			AAGSDQEPKSSDKHTCPCPAPELLGGSS VFLPFPKDTLMIKSRTEVTCVVDVDSHE DPEVFNWYVDGVEVHNAKTRPREQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTFPVLDSDGSFPLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGS GDYKDDDDKSGG
290	LC de trastuzumab	LC		DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQDV NTAVAWYQQKPKAPKLLIYASFLYSGV PSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDPATY CQGHYTPPTFGQGTKVEIK
291	1251-A06-(p)	HC		MQVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGPD FSSYGMHWVRQAPDKGLEWVAIVDDGSD RY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGTRVLGAIHGTDVWGQGT TV TVSSASTKGPVFPFLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPATVSNWNGALTSVHTTPP AV LQSSGLYLSVSVTPSSSLGTQTYICNV NHPKSNITKVDKVEPKSCDKHTICPPCPA FE LLGGFVFLPFPKDTLMIKSRTEVTCV VVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTRP RE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL FP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTFPVLDSDGSFPLYSKLT VD KSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPGKGGSHHHHHH

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
292	1251-A06-(g)	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFD                      FSSYGMHWVRQAPGKGLWVAWIWDDGSD                      RY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTRVLGAIHGTDVWGQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFP                      AV                      LQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHPKSNITKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSPFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGK</p>
293	1251-B08-(p)	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFN                      FSDYGMHWVRQAPDKGLEWVAWIWDDGSI                      SY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTVEHGAVYGTDVWGQGA                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFP                      AV                      LQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHPKSNITKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSPFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGKGGSHHHHH</p>
294	1251-B08-(g)	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFN                      FSDYGMHWVRQAPDKGLEWVAWIWDDGSI                      SY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTVEHGAVYGTDVWGQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSKVHTFP                      AV                      LQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHPKSNITKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSPFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGK</p>
295	1275-C10-(p)	LC		<p>MDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQG                      VSSWLAWYQQKPKAPKSLIYSARYLQSG                      VP                      SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC                      QQYNLYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVPFI                      FP                      PSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQW                      KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS                      TL                      TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS                      FNRGEC</p>
296	1275-C10-(g)	LC		<p>MDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQG                      VSSWLAWYQQKPKAPKSLIYSARYLQSG                      VP                      SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC                      QQYNLYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVPFI                      FP                      PSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQW                      KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS                      TL                      TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS                      FNRGEC</p>
297	1337-A07-(p)	LC		<p>MDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQG                      ISSWVAWYQQKPKAPKSLIYGASRLQSG                      VP                      SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC                      QQYHTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVPFI                      FP                      PSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQW                      KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS                      TL                      TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS                      FNRGEC</p>

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
298	1337-A07-(g)	LC		MDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQG ISSWVAVYQQKPKAPKLLIYGASRLQSG VP SRFSGSGGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
299	1337-A09-(p)	LC		MDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQG IGSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAADRLQSG VP SRFSGSGGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
300	1337-A09-(g)	LC		MDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQG IGSWLAWYQQKPKAPKLLIYAADRLQSG VP SRFSGSGGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYHTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
301	1337-A10-(p)	LC		MDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQG ISSWVAVYQQKPEKAPKSLIYGSSRLQSG VP SRFSGSGGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYNTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
302	1337-A10-(g)	LC		MDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQG ISSWVAVYQQKPKAPKLLIYGSSRLQSG VP SRFSGSGGSDTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYNTYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFI FP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
303	Marca de His en el extremo C	Marcador		GGSHHHHHH
304	Constante de HC	Constante de HC		ASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSNWNGALISGVHTFPAVLQ SS GLYSLSSVTVFPSSSLGTRTYICNVNHPK SNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPALL GG PSVFLFPPKPKDRLMIKSRTEPEVTCVVDV SHEDPEVFNWYVDGVEVHNKTRPREEQ YN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSR EE MTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSPFLYSLKLTVDKS RW QQGNVFPSCVMHEALHNYTQKSLSLSPG K
305	Constante de LC	Constante de LC		RTVAAPSVFIIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QD SKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
306	1251-A03	HC		MQVQLVDSGGGVQPGRSIRLSCAASGFA FSDGGMHWVQAPDKGLEWVAWIYDGS KI YADSVKGRFTISRDNKNTLLQMNLSLRA EDTAVYYCARGGSLAGGAVYGDVWVQGT TV TVSSASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSNWNGALISGVHTF AV LQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTRTYICNV NHPK SNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA PE LLGGFSPVFLFPPKPKDRLMIKSRTEPEVTCV VDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNKTRPRE RE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTL PP SREEMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSPFLYSLKLT VD  KSRWQQGNVFPSCVMHEALHNYTQKSL LSFGKGGSHHHHHH

(continuación)

SEQ ID NO	Molécula	Región	Esquema	Secuencia
307	1251-B09	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFN                      FSDYGMHWVRQAPDKGLEWAVITVDGSSR                      EY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTLVHGALYGNVWGQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFP                      AV                      LQSSGLYLSLSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHKPSNTKVDKVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGKGGSHHHHHH</p>
308	1251-B10	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFN                      FSSHGHWVRQAPDKGLEWAVIWDGSD                      KY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTRVLGAVYGLDVGWQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFP                      AV                      LQSSGLYLSLSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHKPSSTKVDKVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGKGGSHHHHHH</p>
309	Constante de Fc	Constante de Fc		<p>AAQSDQEPKSSDKTHTCPPCSAPELLGGG                      SVFLPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS                      HE                      DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS                      TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA                      LP                      APIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL                      TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP                      EN                      NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ                      QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
310	1251-A06 HC	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFD                      FSSYGMHWVRQAPDKGLEWAVIWDGSD                      RY                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTRVLGAIHGTVDVGQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFP                      AV                      LQSSGLYLSLSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHKPSNTKVDKVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGKGGSHHHHHH</p>
311	1251-F07 HC	HC		<p>MQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFT                      FSSHGHWVRQAPDKGLEWAVIWDGSDN                      EV                      YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA                      EDTAVYYCARGGTRIRGLRYGTDVWGQGT                      TV                      TVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAAL                      GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFP                      AV                      LQSSGLYLSLSVTVFSSSLGTQTYICNV                      NHKPSNTKVDKVKVEPKSCDKTHTCPPCPA                      FE                      LLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCV                      VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP                      RE                      EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK                      VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL                      PP                      SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE                      SNGQPFENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT                      VD                      KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLS                      LSPGKGGSHHHHHH</p>

## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD74, en donde el anticuerpo comprende:
  - 5 (i) una  $V_H$  que comprende: un CDR-H1 que comprende al menos una de las SEQ ID NO: 12 y 44; un CDR-H2 que comprende al menos una de las SEQ ID NO: 76 y 108; y una CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO:140;
  - (ii) una  $V_L$  que comprende: una CDR-L1 que comprende la SEQ ID NO:174; una CDR-L2 que comprende la SEQ ID NO:194; y una CDR-L3 que comprende la SEQ ID NO:214.
- 10 2. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende una región  $V_H$  de la SEQ ID NO: 239, o una variante de la misma que tiene siete o menos sustituciones de aminoácidos, una región  $V_L$  seleccionada de la SEQ ID NO: 268, o una variante de la misma que tiene cuatro o menos sustituciones de aminoácidos.
- 15 3. El anticuerpo de las reivindicaciones 1 o 2, en el que las sustituciones son sustituciones de aminoácidos conservadoras.
4. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además al menos un dominio de la región constante, opcionalmente además en el que la región constante comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 304-305.
- 20 5. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
  - (i) el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal;
  - (ii) el anticuerpo es una IgA, una IgD, una IgE, una IgG o una IgM;
  - 25 (iii) el anticuerpo es humanizado o humano; y/o
  - (iv) el anticuerpo está aglucosilado.
6. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, en donde el fragmento de anticuerpo se selecciona de un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fab', un fragmento scFv (sFv) y un fragmento scFv-Fc.
- 30 7. El anticuerpo de la reivindicación 6, en donde:
  - (i) el anticuerpo es un fragmento scFv; o
  - 35 (ii) el anticuerpo es un fragmento scFv-Fc, opcionalmente en el que el fragmento scFv-Fc comprende la SEQ ID NO:229.
8. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la T<sub>m2</sub> del anticuerpo es de al menos 75 °C, opcionalmente además en el que la T<sub>m1</sub> del anticuerpo es inferior a 61 °C.
- 40 9. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Un kit que comprende un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 e instrucciones de uso del anticuerpo, opcionalmente además en el que el anticuerpo está liofilizado.
- 45 11. Un polinucleótido que codifica un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
12. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 11.
- 50 13. Una célula huésped que comprende el vector de la reivindicación 12, opcionalmente además en el que la célula huésped se selecciona de una célula de *E. coli*, una célula *Saccharomyces cerevisiae* y una célula CHO.
14. Un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una composición farmacéutica de la reivindicación 9, para usar en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o una afección.
- 55 15. Un anticuerpo para usar de acuerdo con la reivindicación 14, o una composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la enfermedad o la afección se seleccionan de un cáncer, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria y una infección, opcionalmente además en donde el cáncer se selecciona de mieloma múltiple y cáncer pancreático.
- 60

